ISSN 2432-2830
水研機構研報
Bull.Jap.Fish.Res.Edu.Agen.

水産研究・教育機構
研究報告

46

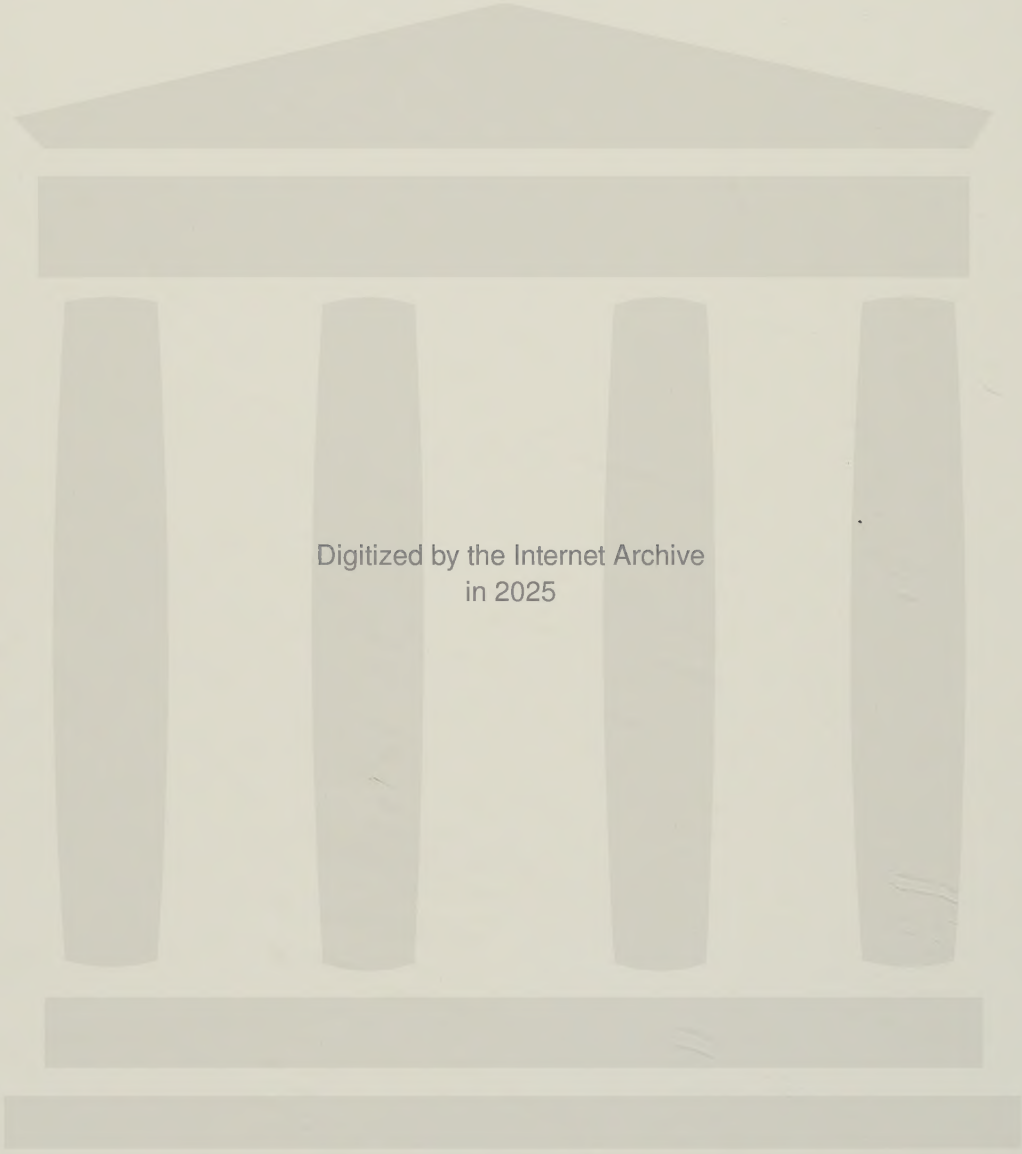
平成30年1月

BULLETIN OF JAPAN FISHERIES RESEARCH AND EDUCATION AGENCY

No. 46
January 2018

Pacific Islands Fisheries
Science Center Library
Received on: 3/13/18

国立研究開発法人 水産研究・教育機構
神奈川県横浜市
JAPAN FISHERIES RESEARCH AND EDUCATION AGENCY
Yokohama, Kanagawa, Japan



Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/bulletin-japan-fisheries-research-and-education-agency_2018-01_46

水産研究・教育機構研究報告

第46号　　平成30年１月

目　　次

（博士論文）

ニトロアレーンの海産生物に及ぼす影響

隠塚俊満…… 1

北太平洋アカイカ釣り漁業における釣獲技術向上に関する研究

黒坂浩平…… 43

水研機構研報，第46号，1－42，平成30年
Bull. Jap. Fish. Res. Edu. Agen. No. 46, 1－42, 2018

ニトロアレーンの海産生物に及ぼす影響*1

Study on the effect of nitroarenes on marine organisms

隠塚　俊満*2

Toshimitsu ONDUKA

Abstract: Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (NPAHs) are formed mainly by incomplete combustion of fossil fuels. Because NPAHs have become widely distributed in the environment, including aquatic systems, the toxicity of NPAHs to marine organisms has become a concern. Photo-induced toxicity occurs when the toxic effect of a chemical is induced or enhanced by visible or ultraviolet radiation; known photo-induced toxic chemicals include polycyclic aromatic hydrocarbons such as pyrene, which have molecular structures similar to NPAHs. The toxicity of NPAHs to marine organisms photo-induced by solar irradiation is therefore also a concern. To clarify the toxicity of NPAHs to marine organisms and to assess the current risk of exposure of marine organisms to NPAHs, the author determined the effects of NPAHs on marine organisms after taking into consideration the light environment. The effects considered in this study included toxic effects on survival, immobilization, growth, and reproduction.

The acute toxicities of 10 NPAHs were determined for marine organisms on three trophic levels: the diatom *Skeletonema costatum*, the herbivorous crustacean *Tigriopus japonicus*, and two species of fish, *Pleuronectes yokohamae* and the mummichog *Fundulus heteroclitus*. The relative toxicities of the NPAHs varied between the test species. A cholesterol pellet containing 1-nitronaphthalene or 1-nitropyrene was implanted into female mummichog, and the transfer of nitro-PAHs to the ovary was examined. The effectiveness of the pellet-implantation method was confirmed based on the transfer of NPAHs to the eggs in a pregnant fish. After pregnant mummichogs were so implanted, the effects on the hatchability of the eggs were recorded, as well as the survival and growth of the resulting larvae. Hatchability was the parameter most sensitive to the effects of both chemicals; chronic toxicity values based on the actual concentrations in the eggs in the test fish were determined. Irradiation with artificial light increased the acute toxicity to *T. japonicus* of 9 of the 10 NPAHs tested. The most phototoxic compound tested was 1-nitropyrene; its toxicity after irradiation with artificial light was more than 1000 times its toxicity in darkness. The phototoxicity of 1-nitropyrene was dependent primarily on the irradiation-induced production of ROS.

To determine the primary risk associated with exposure to NPAHs in the marine environment, the toxicity values or effect concentrations of NPAHs in the above tests were compared to reported concentrations of NPAHs in water. If the uncertainty of the chronic toxicity values and photo-induced toxicity are considered, then the conclusion is that the influence on marine organisms is rather small for four of the five NPAHs for which concentrations in water have been reported or estimated. The influence of 1-nitropyrene is a possible exception,

2017年10月30日受理（Recieved on October 30, 2017）
*1 鹿児島大学審査学位論文（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した。鹿児島大学リポジトリより公表済　URL:https://ir.kagoshima-u.ac.jp/）
*2 瀬戸内海区水産研究所　〒739-0452　広島県廿日市市丸石２-17-５
(National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2-17-5 Maruishi, Hatsukaichi, Hiroshima 739-0452, Japan)

because the predicted no-effect concentration determined in this study is similar to the reported concentration of this compound in water. This study has provided new information regarding risks to marine organisms from exposure to NPAHs.

Key words: Primary risk assessment, Photo-induced toxicity, Pellet-implantation method, Predicted no-effect concentration

目次

第1章　緒言
第2章　海産生物に対する急性毒性
　2.1　試料と方法
　2.2　結　　果
　2.3　考　　察
　2.4　まとめ
第3章　海産生物に対する慢性毒性
　3.1　試料と方法
　3.2　結　　果
　3.3　考　　察
　3.4　まとめ
第4章　海産生物に対する毒性の光照射による変化
　4.1　試料と方法
　4.2　結　　果
　4.3　考　　察
　4.4　まとめ
第5章　総合考察
謝　辞
文　献

第1章　緒言

1.1　研究の背景と目的

18世紀の産業革命以降，人類は莫大なエネルギーを消費することにより繁栄を謳歌している。人類が使用するエネルギーには様々な種類があり，代表的なものとして，石油，石炭，天然ガス等の化石燃料，水力，太陽光，風力等の再生可能エネルギー，原子力などが挙げられる。2012年に世界で使用された一次エネルギーは石油換算で127億トンであり，そのうち石油，石炭，天然ガス等の化石燃料は87%を占めている（BP public limited company, 2014）。日本においては，2011年3月に発生した東日本大震災以来，一次エネルギーに占める原子力の割合が減少して化石燃料への依存度はより高まっており，2012年度では一次エネルギーのうち化石燃料は92%を占めている（資源エネルギー庁，2014）。

莫大な量の化石燃料の使用は地球環境に様々な影響を及ぼしている。影響を及ぼしている一例として，酸性雨が挙げられる。酸性雨とは化石燃料の燃焼や火山の噴火などで発生する硫黄酸化物（SO_x）や窒素酸化物（NO_x）が雨や雪および霧に溶けることにより，通常より強い酸性を示す現象（Likens and Bormann, 1974）で，1970年代から欧州や米国で問題になっており，近年では中国など新興国でも問題になりつつある（Larssen and Carmichael, 2000）。水域や土壌を酸性化して生態系に影響を及ぼし（Schindler, 1988），森林生態系に直接影響を及ぼしている（Likens et al., 1996）。さらにはコンクリートを溶かし，金属を酸化して建造物に被害を与えている（Reisener et al., 1995）。

近年では地球温暖化についても注目が集まっている。この現象は人間活動による二酸化炭素（CO_2）やメタン（CH_4）などの温暖化ガスの排出により，地球の大気や海洋の温度が長期的に上昇する現象である（IPCC, 2007a）。温度上昇による世界的な気象の変化，海水面上昇による海岸線の侵食などにより様々な生態系への影響が危惧されている（Walther et al., 2002）。温暖化ガスとしては二酸化炭素，メタン，一酸化二窒素（NO_2）などが挙げられるが，二酸化炭素が温暖化に最も大きく寄与しており，この二酸化炭素濃度の上昇原因は主に化石燃料の使用が原因であるとされている（IPCC, 2007b）。このように化石燃料を使用する際に発生する副産物の環境影響については，使用する化石燃料の量が莫大であり，排出されるガスは国境を越えて移動するため，地球規模の問題に発展しやすい。また，前述のとおり，化石燃料の使用は人類の文明的な生活に大きく寄与しているため，すぐに使用を制限することが難しく，問題が長期化しやすい。そのため，これらの副産物の環境影響については優先的に検討し，問題がある場合は早期に問題提起しつつ，解決策を模索する環境を整える必要がある。

化石燃料の使用の際に発生する副産物の一種として，ニトロアレーン（NPAHs）が挙げられる。NPAHsは多環芳香族炭化水素（PAHs）にニトロ

基が付加した化合物で，工場や自動車における化石燃料の燃焼（Nielsen, 1984），または大気中における一酸化窒素（NO）とPAHsの反応により生成する（Atkinson and Arey, 1994）。NPAHsは主にPM 2.5などの粒子状物質に吸着されており，水域を含めた全ての環境に広く分布している（Bamford and Baker., 2003）。NPAHsの環境モニタリングは大気中濃度の調査例が多い（Bamford and Baker., 2003；Hasei, et al., 2006；Hayakawa et al., 1995；Kuo et al., 2003；Vasconcellos et al., 2008）。NPAHsは親化合物のPAHsとともに大気中に存在し，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入する。そのため，水域環境中における調査例では，限定的ではあるものの海の底質（De Giorgio et al., 2010；Fernandez et al., 1992；Ozaki et al., 2010）や，河川水（Ohe and Nukaya, 1996；Murahashi et al., 2001；Takahashi et al., 1995）および海水（Murahashi et al., 2001）から検出されている。近年では大阪湾の二枚貝からNPAHsが検出され，ムラサキイガイおよびカキ中の濃度は合計濃度でそれぞれ2380-24,700および2670-26,000 pg/g dry weightと報告されている（Uno et al., 2011）。

NPAHsは強力な遺伝毒性物質であるベンゾ［a］ピレンと同等もしくはそれ以上の遺伝毒性を有し（Wislocki et al., 1986；Busby et al., 1988），一部のNPAHsはサルモネラなどの細菌やラットなどのほ乳類に対して強い変異原性を示す（Tokiwa and Ohnishi, 1986；IPCS, 2003）。国際がん研究機関（IARC：International Agency for Research on Cancer）はNPAHのうち1-ニトロピレンおよび6-ニトロクリセンの2種類をグループ2A，ヒトに対しておそらく発がん性があるグループに，11種類（3,7-ジニトロフルオランテン，3,9-ジニトロフルオランテン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，1,8-ジニトロピレン，5-ニトロアセナフチレン，3-ニトロベンズアントロン，ニトロフェン，2-ニトロフルオレン，1-（5-ニトロフルフリリデンアミノ）-2-イミダゾリジノン，4-ニトロピレン）をグループ2B，ヒトに対して発がん性の可能性があるグループにそれぞれ分類している（IARC, 2014）。水生生物については，NPAHsの一種1-ニトロピレンの曝露によりbrown trout（*Salmo trutta*, Michelmore and Chipman., 1998）や mussel（*Mytilus edulis* L., Michelmore et al., 1998）にDNA損傷などの遺伝毒性が誘導され，また，7種NPAHsを添加した餌を用いた曝露により，マコガレイmarbled flounder（*Pleuronectes yokohamae*）に赤血球の異常などの遺伝毒性が誘導された（Bacolod et al., 2013a）。6種NPAHsのmarbled flounderに対する生物濃縮係数（bioconcentration factors, BCF）が検討されており，BCFは4-422であり，検討した6種のNPAHsの中で1,8-ジニトロピレンが最も大きく，6-ニトロクリセンが最も小さい（Bacolod et al., 2013b）。水生生物に対する毒性影響については，NPAHsの一種1-ニトロナフタレンのfathead minnow（*Pimephales promelas*）に対する急性毒性は9.0 mg/Lと報告されている（Curtis and Ward, 1981）。このように，NPAHsは水域環境を含む全ての環境に広く分布し，水生生物を含む幅広い生物に対して遺伝毒性を有しており，化石燃料の使用の際に発生する副産物として新たに環境影響が懸念される物質群の一つと考えられる。

化学物質の水域環境に及ぼす影響を考える際には，水生生物に影響を及ぼす濃度，つまり毒性値から，水域生態系に影響を及ぼさないと推定される濃度，予測無影響濃度（Predicted No Effect Concentration, PNEC）を推定し，これを化学物質の実測値または計算値から得られた予測環境中濃度（PEC）と比較することでリスクを評価するのが一般的である（OECD, 2002）。また，本研究の被検物質であるNPAHsは工場や自動車における化石燃料の燃焼（Nielsen, 1984），または大気中における一酸化窒素（NO）とPAHsの反応により生成する（Atkinson and Arey, 1994）。NPAHsは主にPM 2.5などの粒子状物質に吸着されており，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入し，最終的には沿岸海域に流入することが想定されるため，海洋生態系に及ぼす影響を検討することが重要である。しかし，NPAHsの水生生物に対する毒性に関する情報がほとんど見あたらず，水域における環境影響評価するのに十分でない。さらに，環境中に放出された化学物質は環境中の物理的および化学的な作用に曝される。NPAHsと分子構造の近いピレン等のPAHsは紫外線照射により，最高一万倍以上海産生物に対する毒性が強まることが報告され（Pelletier et al., 1997），これらの光毒性は活性酸素種（reactive oxygen species, ROS）が主な原因と考えられている（Fu et al., 2012）。4-ニトロピレンなど一部のNPAHsは紫外線照射によりROSを発生した（Xia et al., 2013）ため，太陽光はNPAHsの環境影響に大きな影響を及ぼす可能性があり，光による毒性の変化を明らかにすることは，より精度の高い海産生物の影響評価に繋がる。

これらのことから，本研究では光条件を考慮したNPAHsの海産生物に対する毒性影響を明らかにし，

既報の環境中濃度と比較することで，現時点におけるNPAHsの海洋生態系への有害性初期評価を行うことを目標にした。

1.2 試験生物の選定

水域生態系には様々な生物が生息しており，生息する全生物に対する影響を検討するのは難しい。そのため，栄養段階の異なる生物，藻類，甲殻類（*Daphnia* sp.），および魚類に対する急性および慢性毒性影響を検討し，評価することが推奨されている（OECD, 2002）。水生生物に対する化学物質の毒性試験法は，OECDのテストガイドライン，国際標準化機構（ISO）および米国材料試験協会（ASTM International）が定めた試験法，米国環境保護局（United States Environmental Protection Agency, U.S.EPA）などの各国政府が関係省庁で取りまとめた試験法が知られているが，これらの試験推奨種のほとんどは淡水の生物である。例えば，OECDテストガイドラインでは藻類の試験生物として淡水緑藻；*Pseudokirchneriella subcapitata*, *Scenedesmus subspicatus*，淡水珪藻；*Navicula pelliculosa*，淡水藍藻；*Anabaena flos aquae*, *Synechococcus leopoldensis*（OECD, 2006a），甲殻類の試験生物として*Daphnia magna*（OECD, 2004, 2008）がそれぞれ提案されている。魚類については急性毒性と慢性毒性で試験生物が若干異なり，急性毒性試験では淡水魚zebrafish（*Brachydanio rerio*），fathead minnow,common carp（*Cyprinus carpio*），ricefish（*Oryzias latipes*），guppy（*Poecilia reticulata*），bluegill（*Lepomis macrochirus*），rainbow trout（*Oncorhynchus mykiss*），慢性毒性試験では淡水魚zebrafish, fathead minnow, ricefish, rainbow troutがそれぞれ提案されている（OECD, 1992, 2013）。

本研究の被検物質であるNPAHsは主にPM2.5などの粒子状物質に吸着されており，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入し，最終的には沿岸海域に流入することが想定される。NPAHsの沿岸域への流入を考えると，淡水域のみならず沿岸生態系に対するリスク評価が重要である。また，淡水魚bluegillと海産魚tidewater silverside（*Menidia peninsulae*）の化学物質に対する感受性を比較すると多くの物質について海産魚の感受性が淡水魚よりも高い（Dawson et al., 1975-76）。マミチョグMummichog（*Fundulus heteroclitus*）のナフタレンに対する感受性は塩分濃度の増加に伴い高くなる（Levitan and Taylor, 1979）。これらのことから，生物に及ぼす影響と海産生物に及ぼす影響は異なる可能性が指摘されており（Leung et al., 2001），海域における影響評価には海産生物に及ぼす影響を検討する必要がある。

日本では，水産庁が海産生物毒性試験指針を策定しており（水産庁, 2010），この中で海産藻類としてスケレトネマ（*Skeletonema costatum*）が試験生物として推奨されている。国立環境研究所微生物系統保存施設ではスケレトネマの学名が*Skeletonema marinoi-dohrnii complex*に変更されているが，混乱を避けるため，この論文では*Skeletonema costatum*と表記する。

甲殻類では，急性毒性試験の推奨種としてシオダマリミジンコ（*Tigriopus japonicus*），スジエビモドキ（*Palaemon serrifer*），アシナガモエビモドキ（*Heptacarpus futilirostris*），クルマエビ（*Marsupenaeus japonicus*）が提案されており，シオダマリミジンコについては慢性毒性試験の一種である繁殖毒性試験の推奨種としても提案されている。魚類については急性毒性試験の推奨種としてマダイ（*Pagrus major*），シロギス（*Sillago japonica*）が提案されているが，慢性毒性試験についてはマミチョグ，ジャワメダカ（*Oryzias javanicus*）が推奨されている。

本研究ではこれらの推奨種の中で，試験生物としてスケレトネマ，シオダマリミジンコ，マミチョグを選定した。スケレトネマはタラシオシラ目の海産珪藻で，日本沿岸でよく観察される種である。スケレトネマはASTM（1994），Standard Methods（APHA-AWWA-WPCF, 1998），U.S.EPA（1971, 1974）が提案した毒性試験法においても試験種として推奨されている。有機スズ化合物や船底塗料用防汚物質に対して珪藻の感受性が高く，その中でもスケレトネマの感受性が高いと報告されている（Fent, 1996；Onduka et al., 2010）。国立環境研究所微生物系統保存施設などで入手可能であり，入手した藻類株は瀬戸内海区水産研究所で継代培養し，試験に供することができる。

シオダマリミジンコはハルパクチクス目（harpacticoid）に属する底生性の海産カイアシ類であり，日本温帯域の沿岸満潮線より上にある潮だまりに生息し，塩分や水温等の環境変化に対して抵抗性の強い種である（高野, 1968）。シオダマリミジンコについては多くの重要なバイオマーカー遺伝子のシークエンスや，これらのバイオマーカーの有害化学物質暴露への応答が研究され，シオダマリミジンコが生態毒性機構解明のためのモデル生物としての適性を備えていると評価されている（Raisuddin et al., 2007,

Machida et al., 2002)。日本沿岸の潮だまりから採取可能であるが，系統による感受性の違いが考えられるため，シオダマリミジンコの系統が確立されている財団法人海産生物環境研究所から入手した。シオダマリミジンコは瀬戸内海区水産研究所で継代飼育し，ふ化後のノープリウス幼生を試験に供することができる。また，ノープリウス幼生は光を透過するため，光による毒性変化を顕著に反映しやすく，光照射による毒性変化を見る種として適している。

マミチョグは北米東海岸原産のメダカ目広塩魚であり，水槽内での繁殖が可能で，受精卵から仔稚魚の飼育が容易な種である。マミチョグの卵は卵膜を透して胚の発達が容易に観察できるため，発生過程も詳細に検討され（Armstrong and Child, 1965），生殖生理についても詳細に検討されている（Shimizu, 1997)。また，マミチョグについては生殖生理，毒性，遺伝学，生態などの多くの情報が集積されており，生態毒性に限らず，硬骨魚類のモデル生物としての適性を備えていると評価されている（Burnett et al., 2007)。マミチョグは瀬戸内海区水産研究所で継代飼育しており，受精卵，稚仔魚を試験に供することができる。そのため受精卵からの曝露試験など慢性毒性影響を検討することができる。

また，NPAHsの動態を考慮するとNPAHsは海の底質に蓄積することが想定される。そのため，異体類などの底魚に対する毒性影響を検討することが重要である。毒性試験にはある程度まとまった尾数の入手が必要であることから，水槽内で繁殖可能な種を除くと種苗生産されている魚種が中心となる。日本国内で種苗生産されている異体類はヒラメ（*Paralichthys olivaceus*）とマコガレイが主である（水産総合研究センター，2014)。ヒラメは魚食性が強いのに対してマコガレイは多毛類，甲殻類，二枚貝などを主な餌とするため，食物連鎖を通じた底質からの化学物質の影響を調査するための対象種として用いられている(Hashimoto et al., 2000)。マコガレイは試験を実施する瀬戸内海区水産研究所に近く，輸送時のストレスが少ないと想定される山口県下松市栽培漁業センターから稚魚を入手可能であり，同研究所で馴致飼育し，試験に供することができる。

海洋生態系において栄養段階の異なる藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，魚類マミチョグおよびマコガレイに対するNPAHsの毒性影響を検討し，海洋生態系に及ぼす有害性を評価することで，我が国沿岸域の漁場環境保全に資することが可能になる。

1.3 被検物質の選定

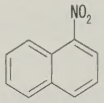
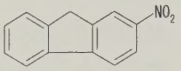
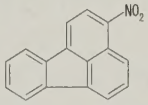
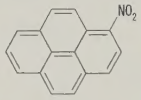
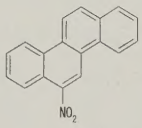
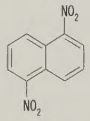
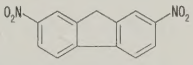
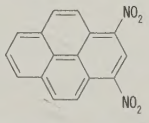
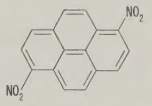
NPAHsには様々な種類が存在する。国際化学物質安全性計画（IPCS：International Programme on Chemical Safety）により人の健康や環境へ与える影響についての評価書がまとめられているが，この中で65種類のニトロアレーンが取り上げられている(IPCS, 2003)。取り上げられた物質の中で，2－4環の芳香環を持つ物質が53物質を占めており，また，60物質がモノニトロ体かジニトロ体である。そのため，2－4環の芳香環を持つPAHsのモノニトロ体およびジニトロ体の毒性を検討すれば，主要なNPAHsの毒性を検討することができる。これらのことを考慮し，選定した被験物質を**Table 1**に示す。

ここで選定した4種の試験生物および10種類の被検物質により，急性毒性試験を実施し，急性毒性値を明らかにする。これらの毒性値を比較することにより，海産生物に対して強い毒性を示す物質を調べるとともに，試験生物による感受性の違いを明らかにする。また，急性毒性試験において顕著な毒性を示した物質について，魚類マミチョグに対する慢性毒性試験を実施して慢性毒性値を明らかにする。シオダマリミジンコのノープリウス幼生を用いて光照射による毒性の変化を検討し，光毒性が顕著な物質を用いて，光分解物およびROSの発生の両面から検討することにより，光毒性の原因を検討する。これらの成果が得られることにより，光条件を考慮したNPAHsの海産生物に対する毒性影響を明らかにし，得られた毒性値からNPAHsのPNECを計算する。この値を既報の環境中濃度と比較することで，現時点におけるNPAHsの海洋生態系への初期リスク評価を行う。また，光照射による毒性変化の原因の一つを明らかにする。

第2章 海産生物に対する急性毒性

海産生物を含む水生生物を用いた毒性試験には高濃度で短期間の影響を調べる急性毒性試験と低濃度で長期間にわたる影響を調べる慢性毒性試験があるが，これらは水域環境における各種化学物質の影響評価に欠かせない試験法となっている。中でも急性毒性試験は試験期間が短く，比較的簡便であるため，これまでに種々の水生生物に対する各種化学物質の毒性影響が検討されている。日本においては，農薬登録の際，淡水の藻類，甲殻類および魚類に対する農薬の急性毒性試験結果を報告することが必須である（農林水産省，農薬取締法）など，化学物質の環境影響評価の重要な柱となっている。

Table 1. Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons used for toxicity tests (IPCS, 2003)

CAS No.	Chemical name	Molecular structure	Molecular weight	Melting point (℃)	Boiling point (℃)	Water solubility (mg/L, 25℃)	$\log K_{ow}$	IARC categories[a]
86-57-7	1-nitronaphthalene		173.17	58-61.5	312	9.18	3.19	3
607-57-8	2-nitrofluorene		211.22	154-158	326	0.216	3.37	2B
13177-28-1	3-nitrofluoranthene		247.25	156-162	-[b]	-[b]	5.15	3
5522-43-0	1-nitropyrene		247.25	151-152	472	0.017	4.69	2A
7469-02-8	6-nitrochrysene		273.29	208	-[b]	-[b]	5.41	2A
605-71-0	1,5-dinitronaphthalene		218.17	215-219	-[b]	-[b]	2.58	-[c]
5405-53-8	2,7-dinitrofluorene		256.22	334	-[b]	-[b]	3.35	-[c]
75321-20-9	1,3-dinitropyrene		292.25	295-297	-[b]	-[b]	4.44	2B
42397-64-8	1,6-dinitropyrene		292.25	309-310	-[b]	-[b]	4.44	2B
42397-65-9	1,8-dinitropyrene		292.25	299-300	-[b]	-[b]	4.44	2B

[a] Classification of the carcinogenic risk for humans by IARC (2014), [b] no data, [c] unclassified.

水生生物を用いた各種化学物質の毒性試験は主に淡水の生物を用いて実施されてきた。環境汚染が問題となった当初，汚染源のほとんどが工場排水であり，それが河川に排出されていたため，評価対象とした環境が河川や湖沼といった淡水域であったことに起因している。我が国では人口密集地域は沿岸域に分布しており，人間活動に伴う化学物質の沿岸環境への放出が想定され，また，河川に流出した化学物質は最終的に海に流入する。沿岸域の環境は漁業とも密接に関係していることから，海産生物への各種化学物質の影響評価の重要性が高まっている。本研究の対象物質であるNPAHsは大気中に存在し，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入し，最終的には沿岸海域に流入する。そのため，ここでは海産の試験生物として選定した，海産藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコおよび魚類マコガレイおよびマミチョグを用いて10種のNPAHsについての急性毒性試験を実施した。得られた毒性値を比較することにより，海

産生物に対して強い毒性を示す物質を調べるとともに，試験生物による感受性の違いを検討した。さらに，得られた急性毒性値を基に物質毎の予測無影響濃度（Predicted No Effect Concentration, PNEC）を推定し，これらの値を報告された環境中濃度や環境モデルにより推定した環境中濃度と比較することにより，現時点におけるNPAHsの海洋生態系への初期リスク評価を行った。

2.1 試料と方法

2.1.1 被検物質および試験液

1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，3-ニトロフルオランテン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，1,8-ジニトロピレン，6-ニトロクリセン，およびフルオランテンはSigma-Aldrich（St. Louis, USA）から，1,5-ジニトロナフタレン，2,7-ジニトロフルオレン，および1-ニトロピレンは東京化成工業（東京）から，ナフタレン，フルオレン，ピレン，およびクリセンは和光純薬工業（大阪）から，それぞれ購入した。

被験物質の水溶解度が低いため，溶解助剤としてジメチルスルホキシド（DMSO, plant cell culture tested, Sigma-Aldrich, St. Louis, 米国）を用いた。被験物質をDMSOでそれぞれ1-ニトロナフタレン100,000 mg/L，1,5-ジニトロナフタレン2,000 mg/L，2-ニトロフルオレン10,000 mg/L，2,7-ジニトロフルオレン1,000 mg/L，3-ニトロフルオランテン5,000 mg/L，1-ニトロピレン5,000 mg/L，1,3-ジニトロピレン200 mg/L，1,6-ジニトロピレン100 mg/L，1,8-ジニトロピレン100 mg/L，6-ニトロクリセン500 mg/L，ナフタレン100,000 mg/L，フルオレン50,000 mg/L，フルオランテン50,000 mg/L，ピレン50,000 mg/L，クリセン1,000 mg/Lに調製し試験原液とした。これらの試験原液をf/2培地（Guillard and Ryther, 1962）または砂，活性炭およびガラス繊維ろ紙（GFC filter, GE Healthcare, Little Chalfont, 英国）でろ過した海水（以降ろ過海水と表記する）で希釈し，試験液とした。なお，f/2培地はろ過海水から調製した。

予備試験で求めた藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，および魚類マミチョグならびにマコガレイに対するDMSOの10%致死濃度または10%影響濃度はそれぞれ5,900，2,800，8,300，および21,000 μL/Lであり，これらの濃度の5分の1未満の濃度を目安に助剤対照区のDMSO濃度を決定した。藻類生長阻害試験，甲殻類遊泳阻害試験，マミチョグ急性毒性試験，マコガレイ急性毒性試験における助剤対照区のDMSO濃度はそれぞれ330，500，1,000，および2,000 μL/Lとした。

DMSO溶液を用いたNPAHs試験系では，甲殻類および魚類の毒性試験において，毒性値が得られたのは1-ニトロナフタレンのみであった。より多くの被験物質について毒性値を得てリスクを評価するため，分散剤，硬化ひまし油（HCO-40，日光ケミカルズ，東京）の1：1混合液と試験系原液を用いた試験系についても検討した。これらの混合液をf/2培地またはろ過海水で希釈し，試験液とした。甲殻類遊泳阻害試験およびマミチョグ急性毒性試験における助剤対照区のDMSOおよびHCO-40の合計濃度はそれぞれ1,000および2,000 μL/Lとした。藻類生長阻害試験およびマコガレイ急性毒性試験では分散剤HCO-40がそれぞれ＜1および＜100 μL/Lの濃度でスケレトネマの生長およびマコガレイの生残に影響を及ぼすため，藻類生長阻害試験およびマコガレイ急性毒性試験では分散剤HCO-40を用いなかった。

2.1.2 試験生物

藻類の試験生物として，多くの有害化学物質に対し高い感受性を示すことが知られている珪藻のスケレトネマを選定し，国立環境研究所から分譲されたN-324株を試験に供した。500 mLガラス瓶にf/2培地300 mLを収容し，培地中で継代培養した。培養にはグロースチャンバー（MLR-350，三洋電機，大阪）を用い，照明には紫外線をカットした蛍光灯（FL40S・N-EDL・NU，松下電器産業，大阪）を3本使用し，明期14 h暗期10 h，光合成光量子束密度40-80 μmol/m^2/sec，温度20℃の条件で実施した。この培養液に含まれる藻類を後述する藻類生長阻害試験に用いた。

甲殻類の試験生物として，財団法人海洋生物環境研究所から分譲されたシオダマリミジンコの親を瀬戸内海区水産研究所で継代培養し，以降継代培養した生物を用いた。1 Lのガラス容器にろ過海水800 mLを収容し，軽くエアレーションしながら，明期14 h暗期10 h，温度20 ℃の条件で飼育した。餌としてf/2培地で培養したプラシノ藻の*Tetraselmis tetrathele*を餌として用い，1日おきに ＞ 10^4 cells/mLの培養液を5 mL添加した。この培養液から，ナイロン網地（N-NO305T，編み目サイズ48 μm; NB80，編み目サイズ 190 μm; NBCメッシュテック，東京）を用い，ふ化後24時間未満のノープリウス期幼生を得た。ノープリウス期幼生は後述する甲殻類急性遊泳阻害試験に用

いた。

魚類の試験生物として，マミチョグおよびマコガレイを用いた。マミチョグは瀬戸内海区水産研究所で継代飼育しており，1 m^3の水槽で水温22±2 ℃（平均 ± 標準誤差），自然光条件下で飼育した。餌は配合飼料（C-1000，協和発酵工業，東京）を一日おきに与えた。マコガレイ稚魚を山口県下松市栽培漁業センターから入手し，水温14±3 ℃，自然光条件下で数週間馴致飼育した。餌は配合飼料（おとひめC２，丸紅日清飼料，東京）を毒性試験開始前まで１日おきに与えた。マミチョグのふ化仔魚（体重約１ mg）および体重73±21 mgのマコガレイを後述する魚類急性毒性試験に用いた。

2.1.3 藻類生長阻害試験

試験方法は奥村，隠塚（2010）の方法に準拠し，以下の方法で試験を行った。培養条件は継代培養と同条件で予備培養および72時間の試験を行った。試験容器にはφ 24×200 mm，容量64 mLのネジ口試験管を用い，試験溶液は30 mLのf/２培地を用いた。試験原液として被検物質のDMSO溶液を使用し，試験時には助剤対照区を設けた。試験における初期細胞濃度は約10^4 cells/mLとし，各濃度３連で試験を行い，これを２つ繰り返した。被検物質濃度はTable 2およびTable 3に示すとおりであった。被検物質が析出した場合は滅菌したガラス繊維ろ紙（GFC filter, GE Healthcare）で試験液をろ過し，ろ液を試験に用いた。24時間毎に試験液を攪拌した後，藻類の生長を測定した。生長測定はターナー蛍光光度計（励起波長：340-500 nm，発光波長：>665 nm，model 10-AU-005，Turner Designs, Sunnyvale, 米国）を使用し，あらかじめ測定しておいたスケレトネマの細胞数と相対蛍光値の関係から各試験区の細胞数を推定し，生長曲線に基づいて生長速度を算出した。

2.1.4 甲殻類急性遊泳阻害試験

試験方法は堀（2010）の方法に準拠した。試験溶液２ mLをいれたガラス製秤量瓶（φ25×25mL，６mL）に，幼生５個体／容器の割合で収容した４容器を１連とし，これを２つ繰り返した。被検物質濃度はTable 2およびTable 3に示すとおりであった。被検物質が析出した場合は滅菌したガラス繊維ろ紙（GFC filter, GE Healthcare）で試験液をろ過し，ろ液を試験に用いた。試験原液として被検物質のDMSO溶液またはDMSO溶液と硬化ひまし油HCO-40を１対１で混合したものを使用し，試験時には，使用最高濃度と同量の助剤を添加した助剤対照区を設けた。試験溶液に幼生を収容後，暗条件，20℃で24時間置いた後，遊泳阻害の判定を行った。判定は，容器内を緩やかにかき混ぜた後，付属肢を動かすことができても15秒間遊泳しないものを遊泳阻害とした。

2.1.5 魚類急性毒性試験

50 mLガラス製ネジ口三角フラスコに砂および活性炭でろ過した海水（以降活性炭ろ過海水と表記する）５ mLを収容し，試験原液を添加，攪拌した後，マミチョグふ化仔魚を10尾ずつ収容し，96時間の試験を行った。試験原液として被検物質のDMSO溶液およびDMSO 溶液と硬化ひまし油HCO-40と１対１で混合したものを使用し，試験原液の添加量は最高10 μLとした。20℃に設定した恒温装置内に試験容器を収容し，止水式で試験を行った。

40 Lガラス製水槽に活性炭ろ過海水５ Lを収容し，試験原液を添加，攪拌した後，各水槽にマコガレイ稚魚（平均体重71 mg）を10尾ずつ収容し，96時間の試験を行った。試験原液として被検物質のDMSO溶液を使用し，試験時には，使用最高濃度と同量の助剤を添加した助剤対照区を設けた。試験原液の添加量は最高10 mLとし，止水式で試験を行った。いずれの試験においても被検物質濃度は，Table 4の濃度に設定し，試験は２連で行った。24時間ごとに死亡魚の有無を観察し，死亡魚は取り除いた。

2.1.6 被験物質測定

試験液中のNPAHs 濃度の測定は以前報告された負イオン化学イオン化法（Negative Chemical Ionization, NCI）を用いた測定法（Albinet et al., 2006；Kawanaka et al., 2007）を海水用に改変して測定した。また，試験液中のPAHs 濃度の測定は電子イオン化法（Electron Ionization, EI）を用いた測定法（環境庁環境保健部環境安全課，2000）を少ない液量で測定できるよう改変して測定した。

各試験開始時および終了時に採水した急性毒性試験の試験液をガラス繊維ろ紙（GFC filter, GE Healthcare）でろ過し，得られたろ液にサロゲート溶液50 μLを加えた後，ヘキサンで２回振とう抽出した。この抽出液を硫酸ナトリウムで脱水後，内部標準物質溶液50 μLを添加して窒素気流下で0.1または１mLに濃縮し，GC-MSによる分析に供した。NPAHsの測定では，サロゲート溶液として，１-ニトロナフ

Table 2. Nominal and actual concentrations of 10 nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons tested in toxicity tests using an alga *Skeletonema costatum* and a crustacean *Tigriopus japonicus*

Organism	*S. costatum*		*T. japonicus*			
dispersant	−		+		−	
	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, c] (μg/L)	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, d] (μg/L)	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, d] (μg/L)
1-nitronaphthalene	700–2,800(√2) 700–2,800(√2)	540–1,500(52–77) 290–1,600(39–68)	3,100–50,000(2) 3,100–50,000(2)	2,700–46,000(85–93) 2,300–51,000(74–101)	1,560–50,000(2) 1,560–50,000(2)	46–2,900(3.0–5.3) 140–3,200(5.1–8.8)
2-nitrofluorene	3,300 [e]	450(14) [e]	5,000 [e]	2,900(58) [e]	5,000 [e]	40(0.81) [e]
3-nitrofluoranthene	2.5–40(2) 2.5–40(2)	0.34–3.9(6.1–14) 0.29–5.5(6.6–14)	2,500 [e]	1,600(63) [e]	2,500 [e]	38(1.5) [e]
1-nitropyrene	2.0–8.0(√2) 2.0–8.0(√2)	0.20–1.8(5.5–23) 0.21–1.5(5.9–18)	156–2,500(2) 156–2,500(2)	120–2,400(77–97) 110–3,200(71–130)	2,500 [e]	44(1.8) [e]
6-nitrochrysene	167 [e]	13(7.6) [e]	250 [e]	200(81) [e]	250 [e]	4.8(1.9) [e]
1,5-dinitronaphthalene	670 [e]	160(24) [e]	1,000 [e]	570(57) [e]	1,000 [e]	98(9.8) [e]
2,7-dinitrofluorene	330 [e]	27(8.1) [e]	500 [e]	120(24) [e]	500 [e]	16(3.2) [e]
1,3-dinitropyrene	67 [e]	3.5(5.2) [e]	6.25–100(2) 6.25–100(2)	2.1–65(33–65) 3.7–65(46–65)	100 [e]	2.0(2.0) [e]
1,6-dinitropyrene	33 [e]	0.28(0.86) [e]	3.13–50(2) 6.25–50(2)	0.08–19(2.5–48) 0.60–20(9.6–49)	50 [e]	0.84(1.7) [e]
1,8-dinitropyrene	33 [e]	0.44(1.3) [e]	3.13–50(2) 6.25–50(2)	0.13–25(4.2–60) 0.81–24(13–49)	50 [e]	1.6(3.1) [e]

−：toxicity test conducted without dispersant, ＋：toxicity test conducted with dispersant. [a] Values in parentheses are a geometric series with factors. [b] Values in parentheses are the percent concentration of the nominal concentration. [c] Average concentration shown is the geometric mean of actual concentrations at 0 and 72 h. [d] Average concentration shown is the geometric mean of actual concentrations at 0 and 24h. [e] Limit test was carried out at shown concentration.

Table 3. Nominal and actual concentrations of 5 polycyclic aromatic hydrocarbons tested in toxicity tests using an alga *Skeletonema costatum* and a crustacean *Tigriopus japonicus*

Organism	*S. costatum*		*T. japonicus*	
dispersant	−		+	
	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, c] (μg/L)	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, d] (μg/L)
Naphthalene	30–3,000(√10) 30–3,000(√10)	18–1,700(55–77) 13–1,500(43–51)	3,100–50,000(2) 3,100–50,000(2)	79–1,700(1.8–4.1) 140–2,500(3.6–7.8)
Fluorene	100–1,600(2) 100–1,600(2)	37–530(33–50) 41–360(22–41)	500–8,000(2) 500–8,000(2)	20–2,800(6.3–35) 11–1,600(2.2–20)
Fluoranthene	100–1,600(2) 100–1,600(2)	14–38(2.4–14) 16–54(3.4–16)	130–2,000(2) 130–2,000(2)	5.5–620(3.9–31) 1.1–240(0.89–12)
Pyrene	25–400(2) 25–400(2)	4.0–25(6.2–16) 1.9–9.1(2.3–7.6)	130–2,000(2) 130–2,000(2)	2.4–610(2.0–38) 3.3–600(2.6–30)
Chrysene	330 [e]	1.4(0.42) [e]	500 [e]	370(74) [e]

−：toxicity test conducted without dispersant. ＋：toxicity test conducted with dispersant.
[a] Values in parentheses are a geometric series with factors.
[b] Values in parentheses are the percent concentration of the nominal concentration.
[c] Average concentration shown is the geometric mean of actual concentrations at 0 and 72 h.
[d] Average concentration shown is the geometric mean of actual concentrations at 0 and 24 h.
[e] Limit test was carried out at shown concentration.

タレン-d_7，1,5-ジニトロナフタレン-d_6，2-ニトロフルオレン-d_9，1-ニトロピレン-d_9，6-ニトロクリセン-d_{11}の1 mg/Lアセトン溶液を，内部標準物質として，3-ニトロフルオランテン-d_9 の1 mg/Lヘキサン溶液をそれぞれ用いた。また，PAHsの測定では，サロゲート溶液として，ナフタレン-d_8，アントラセ

Table 4. Nominal and actual concentrations of 10 nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons tested in fish toxicity tests using *Pleuronectes*

Organism	*P. yokohamae*		*F. heteroclitus*			
Dispersant	−		+			
	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, c] (μg/L)	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, c] (μg/L)	Nominal concentration [a] (μg/L)	Actual concentration [b, c] (μg/L)
1-nitronaphthalene	250–4,000(2) 250–4,000(2)	220–2,100(47–86) 200–2,100(42–78)	1,500–24,000(2) 1,500–12,000(2)	130–3,500(9–15) 160–1,500(11–12)	500–8,000(2) 500–8,000(2)	150–2,400(28–33) 270–4,800(52–60)
2-nitrofluorene	20,000 [d]	150(0.74) [d]	10,000 [d]	670(6.7) [d]	10,000 [d]	4.6(0.046) [d]
3-nitrofluoranthene	10,000 [d]	4.6(0.046) [d]	500–4,000(2) 500–4,000(2)	8.0–230(1.6–11) 2.4–230(2.4–11)	5,000 [d]	0.10(0.002) [d]
1-nitropyrene	10,000 [d]	16(0.16) [d]	625–5,000(2) 500–4,000(2)	48–850(4.3–17) 34–280(2.7–6.9)	5,000 [d]	0.21(0.0047) [d]
6-nitrochrysene	1,000 [d]	2.9(0.29) [d]	500 [d]	3.3(0.67) [d]	500 [d]	0.033(0.007) [d, e]
1,5-dinitronaphthalene	4,000 [d]	64(1.6) [d]	2,000 [d]	400(20) [d]	2,000 [d]	38(1.9) [d]
2,7-dinitrofluorene	2,000 [d]	6.1(0.31) [d]	1,000 [d]	27(2.7) [d]	1,000 [d]	0.86(0.086) [d]
1,3-dinitropyrene	400 [d]	0.57(0.29) [d]	200 [d]	83(42) [d]	200 [d]	0.51(0.25) [d, e]
1,6-dinitropyrene	200 [d]	0.56(0.56) [d]	100 [d]	4.4(4.4) [d]	100 [d]	0.11(0.11) [d, e]
1,8-dinitropyrene	200 [d]	0.49(0.49) [d]	100 [d]	7.1(7.1) [d]	100 [d]	0.16(0.16) [d, e]

−：toxicity test conducted without solvent, ＋：toxicity test conducted with solvent. [a] Values in parentheses are a geometric series with factors.
[b] Values in parentheses are the percent concentration of the nominal concentration. [c] Average concentration shown is the geometric mean of actual concentrations at 0 and 96h. [d] Limit test was carried out at shown concentration. [e] The concentration of chemical tested was set to half the detection limit because, at the end of the run, the test chemical was undetecTable in the test solution.

ン-d_{10}，ピレン-d_{10}，クリセン-d_{12}の1 mg/Lアセトン溶液を，内部標準物質として，フルオレン-d_{10} の1 mg/Lヘキサン溶液をそれぞれ用いた。

NPAHs の測定は，キャピラリーカラムHB 5-MS，30 m，0.25 mmID（Agilent Technologies, Santa Clara，米国）を装着したGC/MS（Agilent, 6890N, 5975 inert; Yokogawa Analytical Systems，東京）を用い，NCIで測定モードをSIM（Selective Ion Monitor）として測定した。注入口の温度は280℃とし，検出器の部分に290℃の温度をかけ，質量分析計のイオン源部分に240℃の温度を得た。カラム温度は100℃で2分間保持した後，20℃/分で200℃まで昇温，引き続き5℃/分で320℃まで昇温後，14分間保持した。分析時間は45分であった。また，PAHs の測定は，キャピラリーカラムDB 5-MS，30 m，0.25 mmID（Agilent Technologies）を装着したGC/MS（Agilent，6890N，5975 inert）を用い，EIで測定モードをSIMとして測定した。注入口の温度は280℃とし，検出器の部分に300℃の温度をかけ，質量分析計のイオン源部分に240℃の温度を得た。カラム温度は60℃で1分間保持した後，10℃/分で120℃まで昇温，引き続き5℃/分で210℃まで昇温後，6℃/分で300℃まで昇温し，5分間保持した。分析時間は50分であった。

モニターイオンはそれぞれ，1-ニトロナフタレン（127，173），1,5-ジニトロナフタレン（165，211），2-ニトロフルオレン（165，211），2,7-ジニトロフルオレン（163，256），3-ニトロフルオランテン（200，292），1-ニトロピレン（201，247），1,3-ジニトロピレン（200，292），1,6-ジニトロピレン（200，292），1,8-ジニトロピレン（200，292），6-ニトロクリセン（226，273），1-ニトロナフタレン-d_7（180），1,5-ジニトロナフタレン-d_6（224），2-ニトロフルオレン-d_9（220），3-ニトロフルオランテン-d_9（256），1-ニトロピレン-d_9（256），6-ニトロクリセン-d_{11}（284），ナフタレン（128，127），フルオレン（166，165），フルオランテン（202，200），ピレン（202，200），クリセン（228，226），ナフタレン-d_8（136），フルオレン-d_{10}（176），アントラセン-d_{10}（188），ピレン-d_{10}（212），クリセン-d_{12}（240）とした。

試験開始時および終了時における試験液中の被検物質濃度の幾何平均を実測濃度とした（**Table 2, 3, 4**）。試験終了時において，試験液中の被検物質濃度が定量下限値未満の場合は，OECDガイダンスドキュメント（OECD，2000）に沿って，定量下限値の半値を試験終了時の被検物質濃度と設定し，実測濃度を算出した（**Table 4**）。

Table 5. Mean acute toxicity concentrations (lower, upper confidence intervals) of 10 nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons tested on the alga *Skeletonema costatum*, the crustacean *Tigriopus japonicus*, and the fishes *Fundulus heteroclitus* and *Pleuronectes yokohamae*. Also shown are predicted no effect concentrations (PNEC) and predicted environmental concentrations (PEC) of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons.

Chemical	*S. costatum* 72-h EC50 (μg/L) −	*T. japonicus* 24-h EC50 (μg/L) +	*T. japonicus* 24-h EC50 (μg/L) −	*F. heteroclitus* 96-h LC50 (μg/L) +	*F. heteroclitus* 96-h LC50 (μg/L) −	*P. yokohamae* 96-h LC50 (μg/L) −	PNEC (ng/L)	PEC (ng/L)
1-nitronaphthalene	1,200 (1,100–1,400) 1,400 (140–2,700)	4,800 (3,700–6,300) 5,600 (4,600–6,900)	600 (470–760) 850 (610–1,190)	560 (490–640) 890 (730– 1,100)	1,100 (870–1,390) 1,090 (890–1,340)	830 (630–1,060) 710 (580–870)	5,600	11.7
2-nitrofluorene	>450	>2,900	>40	>670	>4.6	>150	>46	8.7
3-nitrofluoranthene	1.7 (1.2–2.4) 2.5 (1.8–3.9)	>1,000	>38	150 (67–350) 190 (73–510)	>0.10 [a]	>4.6	17	N.R.
1-nitropyrene	0.42 (0.38–1.38) 0.64 (0.52–0.84)	680 (470–1,000) 700 (550–870)	>44	290 (160 520) 45 (41–50)	>0.21	>16	4.2	1.0
6-nitrochrysene	>13	>200	>4.8	>3.3	>0.033 [a]	>2.9	>0.33	0.11
1,5-dinitronaphthalene	>160	>570	>98	>400	>38	>64	>380	10
2,7-dinitrofluorene	>27	>120	>16	>27	>0.86	>6.1	>8.6	N.R.
1,3-dinitropyrene	>3.5	14 (10–19) 13 (9.5–18)	>12	>83	>0.51 [a]	>0.57	130	N.R.
1,6-dinitropyrene	>0.28	3.3 (2.1–5.2) 3.6 (2.3–5.8)	>6.0	>4.4	>0.11 [a]	>0.56	33	N.R.
1,8-dinitropyrene	>0.44	4.1 (2.3–7.4) 4.2 (2.4–7.4)	>1.6	>7.1	>0.16 [a]	>0.49	41	N.R.

EC50, median effect concentration; LC50, median lethal concentration; −, toxicity values obtained from tests without a dispersant; +, toxicity values obtained from tests with a dispersant. PNECs were calculated by dividing the lowest value in our acute toxicity data by an assessment factor of 100. PECs are the highest reported concentrations including estimated concentration in river water and sea water. N.R.: not reported. [a], the concentration of chemical tested was set to half the detection limit because, at the end of the run, the test chemical was undetecTable in the test solution.

2.1.7 統計解析

藻類生長阻害試験における72時間の50%生長阻害濃度（72-h EC50）は，対照区との生長速度（1日あたり）比較による生長阻害率および実測濃度からプロビット法により算出した。無影響濃度（NOEC）は生長阻害率が対照区の値と統計的に有意差を示さない最も高い濃度とし，統計解析には一元配置分散分析およびその後のDunnettの多重比較（$P<0.05$）を用いた。プロビット法および多重比較の統計解析にはSPSS社のSPSS 14.0J for Windows regression softwareを用いた。

甲殻類急性遊泳阻害試験における24時間半数影響濃度（24-h EC50）および魚類急性毒性試験における96時間半数致死濃度（96-h LC50）はそれぞれ遊泳阻害率または死亡率と被検物質濃度からtrimmed Spearman-Karber法（Hamilton et al., 1977）により算出した。統計解析には米国環境保護庁が無償配布していたTrimmed Spearman-Karber Program（Ver. 1.5）を用いた。

試験濃度の範囲で50%以上の藻類生長阻害，甲殻類遊泳阻害あるいは魚類死亡の認められない場合は，EC（LC）50は試験最高濃度以上とした。

2.2 結　果

2.2.1 NPAHs

毒性を検討したNPAHsのうち，藻類スケレトネマについては1-ニトロナフタレン，3-ニトロフルオランテン，および1-ニトロピレンの急性毒性値が得られ，それらの平均急性毒性値（72-h EC50）はそれぞれ1300，2.1，および0.53 μg/Lであった（Table 5）。その他のNPAHsについては，試験最高濃度までで50%以上の生長速度阻害が認められなかったため，急性毒性値を求めることができなかった。

甲殻類および魚類では，助剤を用いない系において，1-ニトロナフタレンのみ毒性値が得られた（Table 5）。甲殻類シオダマリミジンコについては，助剤を用いた系において，1-ニトロナフタレン，1-ニトロピレン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，および1,8-ジニトロピレンの急性毒性値が得られ，それらの平均急性毒性値（24-h EC50）はそれぞれ5,200，690，14，3.5，および4.2 μg/Lであった（Table 5）。魚類マミチョグについては，助剤を用いた系において，1-ニトロナフタレン，3-ニトロフルオランテン，および1-ニトロピレンの急性毒性値が得られ，それらの平均急性毒性値（96-h LC50）

Table 6. Mean acute toxicity concentrations (lower, upper confidence intervals) of 5 polycyclic aromatic hydrocarbons tested on the alga *Skeletonema costatum*, the crustacean *Tigriopus japonicus*, and the fish *Fundulus heteroclitu*

Chemical	*S. costatum* 72-h EC50 (μg/L) −	*T. japonicus* 24-h EC50 (μg/L) +	*F. heteroclitus* 96-h LC50 (μg/L) [a] +
Naphthalene	>1,700 1,300(1,100-1,700)	870(590-1,300) 930(120-7,100)	1700
Fluorene	490(470-510) >360	630(340-1,200) 540(320-890)	-
Fluoranthene	>54	15(9.2-25) 40(26-61)	-
Pyrene	>25	36(24-52) 21(14-33)	310
Chrysene	>13	>370	39

EC50, median effect concentration; LC50, median lethal concentration; −, toxicity values obtained from tests without a dispersant; +, toxicity values obtained from tests with a dispersant.
[a], Kakuno et al., 2006.

はそれぞれ730, 170, および170 μg/Lであった (Table 5)。その他のNPAHsについては，試験最高濃度までで50%以上の遊泳阻害あるいは死亡が認められなかったため，急性毒性値を求めることができなかった。

助剤を用いない試験系で今回得られた藻類に対する平均急性毒性値を比較すると，スケレトネマに対しては1-ニトロピレンが最も強い毒性（72-h EC50：0.53 μg/L）を示した（Table 5)。助剤を用いた系で今回得られた平均毒性値を比較すると，シオダマリミジンコに対しては1,6-ジニトロピレン（24-h EC50：3.5 μg/L）が，マミチョグに対しては3-ニトロフルオランテンおよび1-ニトロピレン（96-h LC50：170 μg/L）が，それぞれ強い毒性を示した（Table 5)。シオダマリミジンコおよびマミチョグについては，助剤を用いる系と用いない系両方において，1-ニトロナフタレンの急性毒性値が得られた。助剤を用いた系におけるシオダマリミジンコおよびマミチョグに対する平均毒性値（24-h EC50：5,200 μg/Lおよび96-h LC50：730 μg/L）は，助剤を用いない場合（24-h EC50：730 μg/Lおよび96-h LC50：1,100 μg/L）のそれぞれ8倍および半分程度であった（Table 5)。1,5-ジニトロナフタレンおよび2,7-ジニトロフルオレンについては，試験した濃度の範囲内ではいずれの試験生物に対しても毒性値は得られなかった（Table 5)。

2.2.2 PAHs

毒性を検討したPAHsのうち，藻類スケレトネマについては，ナフタレンおよびフルオレンの急性毒性試験を2回検討したうち，それぞれ1回のみ急性毒性値が得られ，それらの72-h EC50はそれぞれ1,300および490 μg/Lであった（Table 6)。その他のPAHsについては，試験最高濃度までで50%以上の生長速度阻害が認められなかったため，急性毒性値を求めることができなかった。

甲殻類シオダマリミジンコについては，助剤を用いた系において，ナフタレン，フルオレン，フルオランテン，およびピレンの急性毒性値が得られ，それらの平均急性毒性値はそれぞれ900, 590, 28, および29 μg/Lであった（Table 6)。その他のPAHsを用いた試験では，設定可能な最高濃度試験区においても，半数以上の生物に遊泳阻害が認められなかった（Table 6)。

2.3 考　察

本研究では，栄養段階の異なる海産生物，すなわち，藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，魚類マミチョグおよびマコガレイに対する10種類NPAHsの急性毒性を明らかにした。助剤を用いる系と用いない系両方において，シオダマリミジンコおよびマミチョグに対する1-ニトロナフタレンの急性毒性値が得られたものの，急性毒性値はシオダマリミジンコに対しては大きくなり，マミチョグに対しては小さくなった（Table 5)。そのため，助剤添加による1-ニトロナフタレンの毒性への影響について，一定の傾向は認められなかった。

NPAHsの水生生物に対する急性毒性に関する論文はほとんど見あたらないが，1-ニトロナフタレンの影響については若干報告例がある。1-ニトロナフタレンのfathead minnowに対する毒性値96-h LC50（半止水式暴露試験における設定濃度を基にした値）は9.0 mg/L（Curtis and Ward, 1981）であり，この濃度は今回得られた魚に対する設定濃度を基にした毒性値（1,900-4,600 μg/L）および実測濃度を基にした毒性値（560-1,100 μg/L）より高かった。また，1-ニトロナフタレンの淡水の繊毛虫の一種であるCiliate（*Tetrahymena pyriformis*）に対する毒性値IGC50（50% impairment growth concentration，止水式暴露試験における設定濃度を基にした値）は17.3 mg/L（Schultz and Moulton, 1985）であり，この濃度は今回得られた甲殻類に対する設定濃度を基にした毒性値

(13,000-24,000 μg/L) とほぼ同等であった。そのため，シオダマリミジンコとCiliateの感受性はほぼ同等であると推測された。

藻類スケレトネマに対する毒性値をPAHsとニトロ基が導入されたNPAHsにおいて比較した結果，ナフタレンについてはナフタレンおよび1-ニトロナフタレンの72-h EC50がそれぞれ1,300->1,700および1,200-1,400 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），毒性値はほぼ同等であった。フルオランテンについてはフルオランテンおよび3-ニトロフルオランテンの72-h EC50がそれぞれ>54および1.7-2.5 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が導入されると毒性値が20分の1未満となり，毒性が顕著に強まった。ピレンについてはピレン，1-ニトロピレン，およびジニトロピレン類の72-h EC50がそれぞれ>25，0.42-0.64および>0.28->0.44 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が1基導入されると毒性値は40分の1未満になり，毒性が顕著に強まったが，ニトロ基が2基導入されると毒性値は算出できなかった（**Table 5**）。

甲殻類シオダマリミジンコに対する毒性値をPAHsとそれぞれのPAHsにニトロ基が付加した物質において比較した結果，ナフタレンについてはナフタレンおよび1-ニトロナフタレンの24-h EC50がそれぞれ870-930および4,800-5,600 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が付加すると毒性値が5倍程度大きくなり，毒性が弱まった。ピレンについてはピレンについてはピレン，1-ニトロピレン，およびジニトロピレン類の24-h EC50がそれぞれ21-36，680-700および3.3-14 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が1基導入されると毒性値は20-30倍程度大きくなり，毒性が顕著に弱まったが，ニトロ基が2基導入されるとピレンよりも2分の1から8分の1倍程度小さくなり，毒性が強まった。

魚類マミチョグについては，角埜ら（2006）が報告したPAHsのマミチョグに対する毒性値と比較を行った。ナフタレンについてはナフタレンおよび1-ニトロナフタレンの96-h LC50がそれぞれ1,700および560-890 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が付加しても毒性値は倍程度の違いしかなく，ニトロ基付加による毒性の顕著な変化は認められなかった。ピレンについてはピレン，1-ニトロピレン，およびジニトロピレン類の96-h LC50がそれぞれ310，45-290および>4.4->83 μg/Lとなり（**Table 5, 6**），ニトロ基が1基導入されても毒性値はほぼ同等でありニトロ基付加による毒性の顕著な変化は認められず，ニトロ基が2基導入されると毒性値は算出できなかった。これらのことから，ニトロ基の導入による急性毒性の変化は試験生物によって異なり，一定の傾向は認められなかった。

また，参考として他の物質との毒性比較を行った。有機スズ化合物群（OTs）は環境生態系に及ぼす影響が大きく，日本を含めた多くの国でここ20年以上厳しく使用が規制されている。OTsの中で最も強い毒性を示す物質と考えられているトリブチルスズ（Fent, 1996）の藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，魚類マミチョグに対する毒性値はそれぞれ0.33-0.36 μg/L（1.0-1.1 nmol/L, Walsh et al. 1985），5.2 ± 0.5 μg/L（14 ± 2 nmol/L，堀ら，2001），および17.2-23.8 μg/L（59-82 nmol/L, Bushong et al., 1988；Pinkney et al., 1989）と報告されている。そのため，海産生物の種類によっては，数種のNPAHsはトリブチルスズと同程度の強い毒性を示すと考えられた。

1-ニトロナフタレン，3-ニトロフルオランテン，1-ニトロピレン，1,3-ジニトロピレン，1.6-ジニトロピレン，1,8-ジニトロピレンの急性毒性値は一部の試験生物に対して1 mg/Lを下回っており，OECDクライテリアによる最も強い毒性を示す物質群（Acute I）に分類された（OECD, 2001）。1-ニトロナフタレンのfathead minnowに対する毒性値（半止水式暴露試験における設定濃度を基にした値）は9.0 mg/L (Curtis and Ward, 1981）であり，この濃度は今回得られた魚に対する設定濃度（1,900-4,600 μg/L）および実測濃度（560-1,100 μg/L）を基にした毒性値より高かった。分散剤を用いない系における，1-ニトロナフタレンのマコガレイに対する影響はマミチョグに対する影響と同程度であった（**Table 5**）。

本研究で得られた結果を用いてNPAHsのリスク評価を以下に試みた。得られた急性毒性値を用いてPNECを推定した。報告されたNPAHsの水生生物に対する急性毒性値のうち，今回得られた急性毒性値より小さい毒性値は見あたらず，今回得られた毒性値からPNECを推定した。今回毒性試験を実施した10種類のNPAHsについて，今回得られた急性毒性値の中で最も小さい毒性値をOECDが推奨する評価係数100（OECD, 2002）で割り，各NPAHsのPNECを推定した（**Table 5**）。

河川中および海水中における1-ニトロピレンの最高検出濃度はそれぞれ淀川において1,000 pg/L（4,000 fmol/L, Ohe and Nukaya, 1996）および日本海において0.5 pg/L（2 fmol/L, Murahashi et al., 2001）と報告されている。環境動態モデルを用いて，Yaffe et al.（2001）はカリフォルニア地域の水中（環境モデルにおける水であり，海水や河川水などに区別されてい

ない）の1-ニトロピレン濃度を2.9 ng/Lと推定した。Huang and Batterman（2014）は環境動態モデルを用いて，ミシガン湖水中の1-ニトロピレン濃度を0.17 ng/Lと推定した。今回推定した1-ニトロピレンのPNECは4.2 ng/Lであり，この値は上記カリフォルニア地域の推定された水中濃度に近い濃度であった。そのため，1-ニトロピレンは海産生物に影響を及ぼす可能性が想定され，この物質の海洋環境に関するリスクについてさらに研究を進めていく必要がある。

日本における1-ニトロナフタレンおよび1,5-ジニトロナフタレンの河川中濃度はそれぞれ3.7 ng/Lおよび10 ng/Lと報告されている（高橋ら，1995）。Yaffe et al.（2001）は環境動態モデルを用いてカリフォルニア水中の1-ニトロナフタレンおよび2-ニトロフルオレン濃度をそれぞれ1.0 ng/Lおよび2.2 ng/Lと推定した。また，Huang and Batterman（2014）は環境動態モデルを用いて，ミシガン湖水中の1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，6-ニトロクリセン濃度をそれぞれ11.7 ng/L，8.7 ng/L，および0.11 ng/Lと推定した。今回推定した1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，1,5-ジニトロナフタレン，および6-ニトロクリセンのPNECはそれぞれ5,600 ng/L,>46 ng/L,>380 ng/L,>0.33 ng/Lであり，これらのNPAHsの報告された環境水中濃度の少なくとも3倍以上であった。2-ニトロフルオレン，1,5-ジニトロナフタレン，および6-ニトロクリセンについては何れの急性毒性試験においても，試験濃度の範囲で50%以上の藻類生長阻害，甲殻類遊泳阻害あるいは魚類死亡が認められず，急性毒性値を試験最高濃度以上として算出しているため，PNECを低く推定していると考えられる。しかし，実測および推定された環境水中濃度はこれらのPNECを下回っており，これらのNPAHsは環境水中濃度では海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。3-ニトロフルオランテン，2,7-ジニトロフルオレン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，および1,8-ジニトロピレンの環境水中濃度は報告されておらず，これらの物質の海産生物に及ぼす影響を評価することはできなかった。

2.4 まとめ

本章においては，NPAHsの沿岸海洋生態系への影響評価に資することを目的として，各栄養段階の海産生物，即ち，海産藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，および魚類マコガレイおよびマミチョグを用いて10種のNPAHsについての急性毒性試験を実施した。

急性毒性試験の結果，10種のNPAHsのうち，藻類については3種，甲殻類については5種，魚類マミチョグついては3種，マコガレイについては1-ニトロナフタレンのみ，それぞれ急性毒性値が得られた。その他の被験物質を用いた試験では，設定可能な最高濃度試験区においても，藻類の試験では生長速度の半減まで至らず，また，その他の試験では半数以上の生物に影響が認められなかった。NPAHsの急性毒性値とNPAHsと対応するPAHsの急性毒性値を比較した結果，ニトロ基の導入による毒性の変化は試験生物によって異なり，一定の傾向は認められなかった。報告されたNPAHsの水生生物に対する急性毒性値を考慮しつつ，本研究で得られた急性毒性値を用いて各物質のPNECを推定し，それらのリスク評価を行った。推定したPNECと報告された環境水中濃度を比較した結果，1-ニトロピレンについてはPNECと報告された環境水中濃度が近接しており，現在の環境水中濃度においても海産生物に影響を及ぼす可能性が想定された。1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，1,5-ジニトロナフタレン，および6-ニトロクリセンのPENCが，報告された環境水中濃度より少なくとも3倍以上高く，これらのNPAHsは現在の環境水中濃度で海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また，その他の5物質については環境水中濃度が報告されておらず，これらの物質の海産生物に及ぼす影響を評価することはできなかった。

本研究の対象物質であるNPAHsは強い変異原性や発がん性を示す物質も多いため，海産生物に対する慢性影響を見ることが重要である。魚類を用いた慢性毒性試験では対照区の成長や生残などの指標を一定水準以上に維持させるため，流水式で曝露する必要がある。この点については次章で検討する。

第3章 海産生物に対する慢性毒性

近年では公害が社会問題となっていた頃に比較して，高濃度の化学物質が河川等に流出し，魚など水生生物の大量斃死等が起きることはほとんどなくなってきている。そのため，より低い濃度での化学物質の生物影響や，沿岸域を中心とした海域の環境評価が着目されるようになり，急性毒性試験のみならず海産生物を用いた慢性毒性試験の重要性が増してきている。第2章で示したように，NPAHsの水中濃度は低く，急性毒性試験結果から推定した各NPAHsのPNECと比較すると，1-ニトロピレンを除いてほとんどリスクのないことが推測された。しかし，慢性毒性試験結果との比較によるリスクが不明であり，1-ニトロピレ

ンを含むNPAHsの慢性毒性試験実施が必要である。また，本研究の対象物質であるNPAHsは強い変異原性や発がん性を示す物質も多いため，その毒性を考えると海産生物に対する慢性影響を見ることが必要であり，特に奇形発症などの観察が可能な初期生活段階毒性試験の実施が必要である。

藻類については，微細藻類を用いた急性毒性試験において，試験期間中に微細藻類が世代交代を行っており，急性毒性試験を行うことにより，急性および慢性毒性値を算出することが可能である。淡水の藻類ではウキクサを用いた慢性毒性試験が提案されている（OECD, 2006b）。甲殻類についてはOECDのテストガイドライン等において淡水産ミジンコの一種，オオミジンコ（*Daphnia magna*）を用いた繁殖阻害試験法が確立されており（OECD, 2008），広く実施されている。海産甲殻類を用いた慢性毒性試験としてはシオダマリミジンコを用いた繁殖阻害試験法が報告されている（高久, 2010）ものの，シオダマリミジンコを用いた慢性毒性試験の報告例は限られている（Marcial et al., 2003；Lee et al., 2008）。

魚類では慢性毒性試験が比較的早期に確立されており，広く実施されている（OECD, 2013）。魚類の慢性毒性試験である全生活環毒性試験に用いられる試験魚の代表として，コイ目の淡水魚fathead minnowがよく知られている。全生活環毒性試験は受精卵から成魚にいたるまでの全生活環を通して試験を続けるもので，このfathead minnowを試験魚として用いる場合には，試験期間は約300日を要することが知られている（Rand et al., 1995）。このように，慢性毒性試験の実施には急性毒性試験に比較して時間がかかることから，より簡便な手法が求められるようになり，特に感受性が高いふ化から稚魚期を含む初期生活段階に限って試験を実施する初期生活段階毒性試験がOECD のテストガイドライン210（OECD, 2013）に定められ，本手法であれば2か月程度の試験により慢性影響を評価することができる（Rand et al., 1995）ようになった。また，漁網防汚剤，船底塗料あるいは流出油等の汚染問題を契機に，各種化学物質の水生生物に与える影響の評価対象範囲も淡水域から沿岸域から海域へと広がってきており，海域における汚染物質の慢性影響評価の重要性も高まっている（Hutchinson et al.,1994；Ward et al., 1981；OECD, 1998）。しかし，日本産の海水魚についてはその仔稚魚期飼育の困難さから，慢性影響を評価するためのより簡便な試験法である初期生活段階毒性試験にさえ供する試験魚は見当たらない。そのため，海産魚では北米原産のマミチョグを用いた初期生活段階毒性試験が提案されている（角埜, 2010）。

魚類を用いた慢性毒性試験では対照区の成長や生残などの指標を一定水準以上に維持させるため，流水式で曝露する必要がある。しかし，その強い変異原性や発ガン性のため，試験者に対する影響が懸念され，流水式による長期暴露試験の実施には大きな困難と危険性が伴う。そこでその代替法としてコレステロールペレット移植試験を実施することとした。この試験法は魚にホルモンを投与する手法として開発された方法で，コレステロールペレット移植法を用いると，一度の移植により魚にホルモンを数週間投与することが可能である（Crim et al., 1988）。ここでは，産卵前のマミチョグメスに被検物質を含んだコレステロールペレットを移植し，被検物質の卵への移行を評価するとともに，結果として生じる受精卵への毒性影響を検討することとした。また，このコレステロールペレット移植法によって実施した試験結果に基づき，後述するようにNPAHsの慢性毒性値を推定することとした。

本章では助剤を用いない急性毒性試験で魚に唯一毒性影響が認められた1-ニトロナフタレンおよび，藻類，甲殻類および魚類の急性毒性試験で最も毒性の強かった1-ニトロピレンを被験物質とし，被検物質を含んだコレステロールペレットを産卵前のマミチョグメスの筋肉中に打ち込み，被検物質の受精卵への移行試験を実施した。また，コレステロールペレットによる被検物質投与後の，受精卵胚正常発生率への影響を検討するとともに，被験物質の移行した受精卵を4週間飼育して成長および生残に及ぼす影響を検討し，被検物質の卵中実測濃度を基にした最低影響濃度（LOEC）および最大無影響濃度（NOEC）を明らかにした。さらに，得られた毒性値（体内濃度）を，報告されている生物濃縮係数で除して求めた水中濃度を慢性毒性値とし，報告されている環境水中濃度と比較することにより，対象物質のリスク評価を行った。

3.1 試料と方法

3.1.1 化学物質，試験原液およびコレステロールペレット

1-ニトロナフタレン，1-ニトロピレン，コレステロール，およびココアバターはそれぞれSigma-Aldrich（St. Louis, 米国），東京化成工業（東京），和光純薬工業（大阪），大東カカオ（東京）から購入した。その他の試薬は環境分析用試薬を和光純薬工業（大阪）から購入した。

コレステロールペレットを調製するため，40度以上

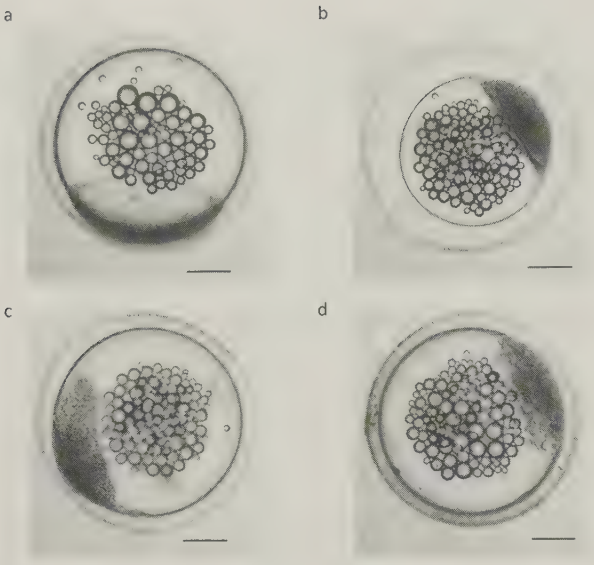


Fig. 1. Typical examples of normal (a) and abnormal (b: wide perivitelline space; c: embryonic disc is not round; d: cells are heterogeneous in the embryonic disc) blastula-stage embryos of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. Bars, 0.2mm

に暖めて液化したココアバターに1-ニトロナフタレンまたは1-ニトロピレンを溶解した。1-ニトロナフタレンおよび1-ニトロピレンはそれぞれ100および5 g/Lを超えてココアバターに溶かすのは困難であったため，これらの濃度の溶液を高移植区用，これらの濃度の10分の1の濃度の溶液を低移植区用とした。すなわち，10または100 g/Lの1-ニトロナフタレンココアバター溶液，および0.5または5 g/Lの1-ニトロピレンココアバター溶液を調製した。1グラムのコレステロールと200 mgの上記溶液または液化ココアバターのみ（対照区用）をそれぞれ混ぜ合わせた。得られた混合物をそれぞれ平均重量1.8 mgのペレットとして成形した。高移植区および低移植区それぞれのペレット1個あたりの初期含有量は1-ニトロナフタレンが平均30または300 μg,または1-ニトロピレンが平均1.5または15 μgであった。これらのペレットは後述のNPAHs移行試験および再生産試験に用いた。

3.1.2 試験生物

瀬戸内海区水産研究所で継代飼育しているマミチョグを用いた。継代飼育条件は前述の急性毒性試験と同様であった。試験には2歳までの成魚を用い，NPAHs移行試験では，体重17±0.30 g（平均±標準誤差）および再生産毒性試験では，体重22±0.89 gの成魚をそれぞれ用いた。

3.1.3 受精卵へのNPAHs移行試験

60 Lガラス水槽に40 Lの水位になるよう活性炭ろ過海水による流水式試験を実施し，1日あたり20回以上海水が交換するよう流量を設定した。14日間の試験期間中の水質条件は温度；20±0.59℃，溶存酸素；7.1±0.20 mg/L，飽和酸素度；>90%，pH；7.7±0.08であった。マミチョグメスの背中側にPIT（passive integrated transponder）タグ用のインジェクター（MK-7, Biomark, Boise, 米国）を用いてコレステロールペレット各1個を移植した。それぞれのペレット1個あたりの初期含有量は1-ニトロナフタレンが平均300 μg，または1-ニトロピレンが平均15 μgであった。NPAHsを加えなかったペレットは対照として用いた。それぞれの実験区に20尾ずつ収容し，毎日1回配合飼料（おとひめC2，丸紅日清飼料，東京）を給餌した。曝露区では，試験開始1，2，4，7，10，および14日目に，対照区では0，1，4，7，および14日目にそれぞれ3尾ずつ採取した。ペレット移植部とその周辺の筋肉を取り除いた後，卵巣とその他の魚体に分け，それぞれホモジナイズした後，NPAHs分析まで-20℃で冷凍保存した。

3.1.4 NPAHsを移植したマミチョグメスを用いた再生産毒性試験

60 Lガラス水槽に40 Lの水位になるよう活性炭ろ過海水による流水式試験を実施し，1日あたり20回以上海水が交換するよう流量を設定した。メスの腹部を押して産卵しているかどうか確認し，産卵しているマミチョグメス個体に下記のコレステロールペレットを1回のみ移植し，メス10尾とオス5尾をそれぞれペアリングした。4週の試験期間中は毎日1回配合飼料（おとひめC2）を給餌した。

予備的にマミチョグメスにコレステロールペレットを移植して飼育した結果，一度に打ち込めるペレットの数は4個が限界であった。また，被検物質の卵中濃度は10倍程度変動するため，投与量を10倍以上変化させないと，低移植区の卵中濃度が高移植区を超えてしまう可能性が想定された。そのため，1-ニトロナフタレン移植試験では，排卵するメス1尾にそれぞれ300 μg含有したペレットを4個ずつ（高移植区），30 μg含有したペレットを2個ずつ（低移植区），またはNPAHsを加えていないペレットを4個ずつ（対照区）移植した。すなわち，移植した1-ニトロナフタレンの総量は高移植区で1尾あたり1200 μg，低移植区で

1尾あたり60 μgであった。1-ニトロピレン移植試験では，排卵するメス1尾にそれぞれ15 μg含有したペレットを4個ずつ（高移植区），1.5 μg含有したペレットを2個ずつ（低移植区），またはNPAHsを加えていないペレットを4個ずつ（対照区）移植した。すなわち，移植した1-ニトロピレンの総量は高移植区で1尾あたり60 μg，低移植区で1尾あたり3 μgであった。コレステロールペレットの移植にはPITタグ用のインジェクター（MK-7，Biomark）を用いた。

各水槽でペアリング1日後に産卵された卵を除き，ペレット打ち込み後1，2，3，および4週の卵を集めた。一部の卵（約5 g）はホモジナイズした後，NPAHs分析まで−20℃で冷凍保存した。胚からふ化仔魚における成長への影響を調べるため，実体顕微鏡下で胞胚期後期から原腸胚期前期の胚を観察および選別した。胚の発生がどの段階にあるかは，Armstrong and Child（1965）が報告した基準に沿って決定した。「正常」卵は正常に成長が進んでいる胚として定義し，囲卵腔や胚盤の像から正常かどうか判断した。典型的な正常および異常な胚を**Fig. 1**に示した。胚正常発生率は（正常な卵の数）/（観察した卵の数）×100で算出した。コレステロールペレット移植1週後のNPAHsの卵中濃度はその後の濃度より比較的高く，NPAHsによる影響を強く受けることが考えられたため，1-ニトロナフタレンおよび1-ニトロピレン移植試験1週目に得られた卵のうち，正常と見られた胚はピペットを用いて注意深く集めた。これらは4つのサブグループにランダムに分け（1-ニトロナフタレン高移植区の場合を除く），それぞれのサブグループはナイロンネット（160×230 mm；編み目サイズ 100 μm）とフロートで作製し，60 L水槽の海水表面およそ80 mmに調整したチャンバー内に収容し，その後の発生を観察した。

1-ニトロナフタレン高移植区の場合は5個の胚のみ使用可能であったため，サブグループに分けなかった。この試験に使用した胚の数は**Table 9**に示した。ふ化後，ふ化仔魚にアルテミアの幼生（ミヤコ化学，東京）を2日に1回飽食量給餌した。ふ化および斃死は毎日モニターし，試験終了時に魚体重および体長を測定した。4週間の試験期間の水質条件は温度；23±0.12℃，溶存酸素；6.8±0.24 mg/L，飽和酸素度；＞90%，pH；7.8±0.018であった。

3.1.5 被検物質分析

魚体中NPAHs 濃度の測定は前述のNCIを用いた測定法（Albinet et al., 2006；Kawanaka et al., 2007）を魚体用に改変して測定した。湿重量1 gの魚体，卵巣，および卵のサンプルにサロゲート溶液50 μLを加えた。それぞれのサンプルをアセトン10 mLおよびアセトンヘキサン混合液（1：1，v/v）10 mLを加えて超音波抽出し，400×gで5分間遠心分離し，抽出液を分離した。この抽出液に蒸留水20 mLを加えて水洗した後，400×gで5分間遠心分離し，水層を分離した。この水層をヘキサン5 mLで再抽出して400×gで5分間遠心分離し，水層を分離して抽出液を得た。この抽出液を硫酸ナトリウムで脱水，濃縮した後，10 kPa，60℃で1時間活性化し，ヘキサン10 mLで洗浄したシリカカラム（Supelclean LC-Si, Sigma-Aldrich, St. Louis, 米国）に添加した。このカラムをヘキサン18.5 mLで洗浄後，2%（v/v）ジエチルエーテルヘキサン10 mLでNPAHsを溶出した。抽出液に内部標準溶液50 μLを添加した後，抽出液を0.1または1.0 mLに濃縮した。GC-MSを用いた測定は急性毒性試験と同様の方法で実施した。1-ニトロナフタレンおよび1-ニトロピレンの定量下限値はそれぞれ0.05および0.02 ng/g wet wt.であった。サロゲート溶液として，1-ニトロナフタレン-d_7および1-ニトロピレン-d_9の1 mg/Lアセトン溶液を，内部標準物質溶液として，3-ニトロフルオランテン-d_9の1 mg/Lヘキサン溶液をそれぞれ用いた。1-ニトロナフタレン-d_7および1-ニトロピレン-d_9のサロゲート回収率はそれぞれ83±3.7および72±3.3%であった。

3.1.6 統計解析

再生産毒性試験における移植区の受精卵の胚正常発生率，胚のふ化率およびふ化日数，ふ化仔魚の生残率および成長と対照区のそれらとの有意差検定には，データの分散が等分散でないため，Steel'sの多重比較（$p<0.05$）を用いた。NOECは各指標が対照区の値と統計的に有意差を示さない最も高い濃度，LOECは各指標が対照区の値と統計的に有意差を示す最も低い濃度とした。多重比較の統計解析にはMicrosoft Excelのアドインソフト，エクセル統計（社会情報サービス，東京）を用いた。

3.2 結　果

3.2.1 NPAHs移行試験

1-ニトロナフタレンコレステロールペレット移植区（以降，1-ニトロナフタレン移植区）における，1-ニトロナフタレン300 μgを含むコレステロールペ

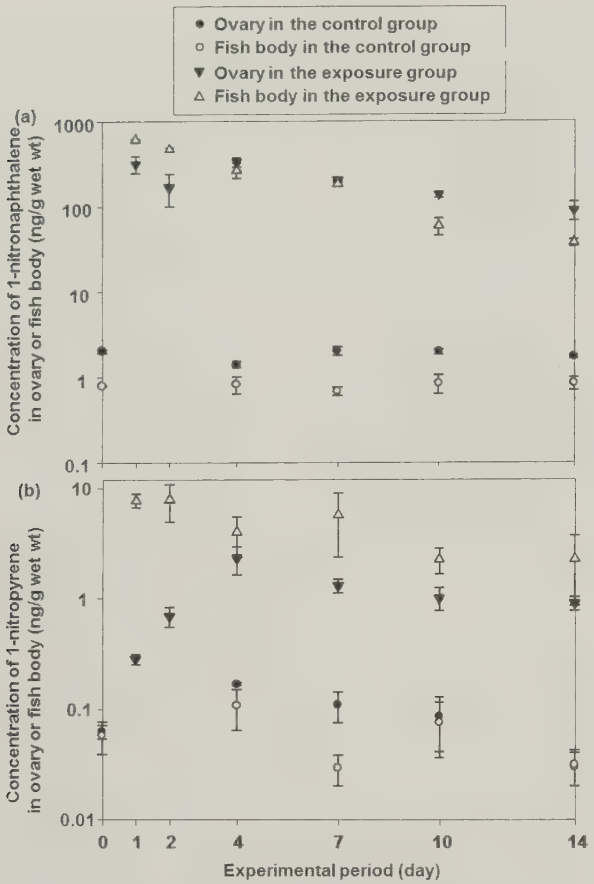


Fig. 2. Concentrations of 1-nitronaphthalene (a) and 1-nitropyrene (b) in the ovary and the rest of the body in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*, after cholesterol pellet implantation. Averages and standard errors are presented (n = 3). Absence of error bars means that the error bars are smaller than the symbol.

レット移植後の卵巣および魚体中の1-ニトロナフタレン濃度は1日目に卵巣中濃度319±72.4 ng/g wet wt.および魚体中濃度606±20.3 ng/g wet wt.と最も高くなり，移植14日後には卵巣中濃度89.5±21.8 ng/g wet wt.および魚体中濃度37.1±3.37 ng/g wet wt.まで減少した（**Fig. 2 a**）。対照区では，全期間を通じて卵巣および魚体中1-ニトロナフタレン濃度は1.8±0.083 ng/g wet wt.および0.79±0.058 ng/g wet wt.で大きく変動せず，その濃度比は2.51±0.24であった。1-ニトロナフタレン移植区の濃度比は，1，2，4，7，10，および14日目にそれぞれ0.53±0.12，0.36±0.14，1.31±0.18，1.11±0.10，2.80±1.01，および2.37±0.45で経日的上昇が認められ，移植後10日後移植区の濃度比が対照区のそれと同等となった。

1-ニトロピレンコレステロールペレット移植区（以降，1-ニトロピレン移植区）における，1-ニトロピレン15 μgを含んだコレステロールペレット移植後の卵巣中1-ニトロピレン濃度は移植 1日目0.28±0.029 ng/g wet wt.から4日目2.28±0.64 ng/g wet wt.まで上昇して最も高くなり，移植14日後には0.89±0.13 ng/g wet wt.まで減少した（**Fig. 2 b**）。1-ニトロピレン移植区における，魚体中1-ニトロピレン濃度は移植1日目7.71±1.07 ng/g wet wt.から2日目7.76±2.90 ng/g wet wt.まで上昇して最も高くなり，移植14日後には2.26±1.40 ng/g wet wt.まで減少した（**Fig. 2 b**）。対照区では，全期間を通じて卵巣および魚体中1-ニトロピレン濃度は0.12±0.029 ng/g wet wt.および0.11±0.021 ng/g wet wt.で大きく変動せず，その濃度比は0.98±0.088であった。1-ニトロピレンコレステロールペレット移植区の濃度比は，1，2，4，7，10，および14日目にそれぞれ0.039±0.0092，0.11±0.032，0.64±0.19，0.62±0.40，0.52±0.20，および0.90±0.45で経日的上昇が認められ，移植後14日後には移植区の濃度比が対照区のそれと同等となった。

3.2.2 再生産毒性試験

1-ニトロナフタレン低移植区においては，移植後1および2週目の1-ニトロナフタレンの卵中濃度（447および666 ng/g wet wt.）が3および4週目（158および102 ng/g wet wt.）よりも高かった（**Table 7**）。対照区の胚正常発生率が15.0±6.7%と低く，1-ニトロナフタレンの正常率に及ぼす影響を十分に検討できなかった（**Table 8**）。ペレット移植により1-ニトロナフタレンが移行したマミチョグ胚の試験では，低移植区のふ化率（33±2.7%）が対照区（67±4.7%）に比べて有意に低かった。ふ化日数，ふ化後4週目の生残，体重および体長は低移植区と対照区の間に有意な差は認められなかった（**Table 9**）。

1-ニトロナフタレン高移植区においては，移植後1週目の1-ニトロナフタレンの卵中濃度（273,000 ng/g wet wt.）が2，3および4週目（567，343，および202 ng/g wet wt.）よりも高かった（**Table 7**）。高移植区の胚正常発生率（4.2±3.2%）は，移植後1週目に対照区（67±4.7%）と比べて低くなり，移植後1週目に得られた正常胚は観察した510個中わずか5個であった（**Table 8**）。ペレット移植により1-ニトロナフタレンが移行したマミチョグ胚の試験では，高移植区のふ化率（40%）が対照区（67±4.7%）に比べて低かった。しかし，高移植区の卵数が5個であり，ふ化率などで十分なデータが得られなかったため，統計解析は行わなかった。1-ニトロナフタレンの移植試験において最も感受性の高かった指標はふ化

率であり，この指標をもとに卵中実測濃度（447 ng/g wet wt）からLOECを算出すると447 ng/g wet wtであった。

1-ニトロピレン低移植区においては，移植後1および2週目の1-ニトロピレンの卵中濃度（344および281 ng/g wet wt.）が3および4週目（98.1および199 ng/g wet wt.）よりも高かった（Table 7）。低移植区の胚正常発生率（22.1±4.2%）は1-ニトロピレンコレステロールペレット移植後2から4週目まで対照区（41.4±9.5%）と比べて低くなったものの，有意な差は認められなかった（Table 8）。ペレット移植により1-ニトロピレンが移行したマミチョグ胚の試験では，低移植区ふ化率（52±11%）は対照区（77±4.4%）と比較して減少したものの，有意な差は認められなかった（Table 9）。また，ふ化日数，生残，成長の指標である体重および体長は低移植区と対照区の間に有意な差は認められなかった（Table 9）。骨格異常個体は低移植区で2個体認められた。

1-ニトロピレン高移植区においては，移植後1および3週目の1-ニトロピレンの卵中濃度（958および

Table 7. Total amounts of implanted 1-nitronaphthalene or 1-nitropyrene; concentrations and total amounts of test chemicals in eggs; 1 to 4 weeks after maternal implantation of cholesterol pellets containing the test chemicals

	Total amount of test chemical implanted in each aquarium (μg)	Conc. of test chemical in eggs (ng/g wet wt.)			
		1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
1-nitronaphthalene test					
Control group [a]	–	103	39.6	7.3	8.2
Low-exposure group [b]	600	447	666	158	102
High-exposure group [c]	12,000	273,000	567	343	202
1-nitropyrene test					
Control group [a]	–	0.03	0.04	0.03	0.02
Low-exposure group [d]	30	344	281	98.1	199
High-exposure group [e]	600	958	62.4	1,810	34.0

[a] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet without addition of the nitro-PAHs.
[b] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet containing 60 μg 1-nitronaphthalene.
[c] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet containing 1200 μg 1-nitronaphthalene.
[d] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet containing 3 μg of 1-nitropyrene.
[e] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet containing 60 μg 1-nitropyrene

Table 8. Effects of 1-nitronaphthalene or 1-nitropyrene on the normality of embryos and numbers of normal embryos obtained from ovulated mummichog, *Fundulus heteroclitus*, implanted with a cholesterol pellet with the test chemicals. Numbers of eggs observed are given in parentheses.

	Numbers of normal embryos				Normality (%)				
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	Average [a]
1-nitronaphthalene test									
Control group [b]	188(558)	25(160)	8(155)	6(107)	33.7	15.6	5.2	5.6	15.0±6.7
Low-exposure group [c]	96(1338)	10(204)	2(124)	6(202)	7.2	4.9	1.6	3.0	4.2±1.2
High-exposure group [d]	5(510)	42(296)	1(135)	5(164)	1.0	14.2	0.7	3.0	4.2±3.2
1-nitropyrene test									
Control group [b]	– [g]	47(122)	46(173)	101(171)	– [g]	38.5	26.7	59.1	41.4±9.5
Low-exposure group [e]	– [g]	14(60)	21(143)	50(173)	– [g]	23.3	14.7	28.9	22.1±4.2
High-exposure group [f]	– [g]	27(137)	29(127)	37(211)	– [g]	19.9	22.8	17.5	20.0±1.4 [h]

[a] Data are expressed as means ± standard error.
[b] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with no added chemicals.
[c] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 60 μg 1-nitronaphthalene.
[d] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 1200 μg 1-nitronaphthalene.
[e] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 3 μg 1-nitropyrene.
[f] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 60 μg 1-nitropyrene.
[g] The number of eggs was not counted.
[h] Significantly different from the control value ($P < 0.05$).

1,810 ng/g wet wt.）が2および4週目（62.4および34.0 ng/g wet wt.）よりも高かった（Table 7）。1-ニトロピレン移植後2から4週間，産卵した卵の胚正常発生率をモニターした結果，移植した1-ニトロピレンの濃度依存的に胚正常発生率が減少し，高移植区の胚正常発生率（20.0±1.4%）は対照区（41.4±9.5%）よりも有意に低かった（Table 8）。ペレット移植により1-ニトロピレンが移行したマミチョグ胚の試験では，ふ化率の減少が認められ，高移植区のふ化率（52±3.7%）が対照区（77±4.4%）に比べて有意に低かった。しかし，ふ化日数，生残，成長の指標である体重および体長は高移植区と対照区の間に有意な差は認められなかった（Table 9）。1-ニトロピレンの影響試験において最も感受性の高かったふ化率を指標にし，卵中実測濃度からLOECおよびNOECを算出するとそれぞれ卵中濃度で958および344 ng/g wet wt.であった。

3.3 考　察

本研究ではNPAHs含有コレステロールペレット移植後の魚体および卵巣へのNPAHsの移行を明らかにした。移植区卵中1-ニトロナフタレンあるいは1-ニトロピレン濃度は，対照区よりも全ての実験期間において高かった（Table 7）。そのため，今回検討したコレステロールペレット移植法は抱卵魚中の卵にNPAHsを移行させる方法として有効であった。NPAHs含有コレステロールペレットの移植試験において，移植1週後のNPAHs卵中濃度が最高値であった（Table 7）。そのため，コレステロールペレット移植1週後の胚をその後の試験に用いた。

ナノインジェクション法は魚卵巣中における化学物質の影響を評価する有効な方法として提案されている（Walker et al., 1996）が，この方法は魚体から卵への化学物質の移行を考慮していない。また，魚類多世代試験では，魚卵巣中における化学物質の影響を含めて化学物質の影響を評価できるが，数ヶ月以上化学物質を曝露し続けることが必要である。本研究で検討したコレステロールペレット移植法では，被検物質の物性により移行期間が異なると考えられるが，移植後1週間程度で被検物質が移行した卵を得ることができ，その後の試験期間はOECDの初期生活段階毒性試験（OECD, 2013）に準じると最長でふ化後60日が試験期間であるため，3ヶ月程度の試験期間で一連の試験を行うことができる。また，被検物質が移行した受精卵を用いた試験については被検物質の曝露の必要がないため，普通に流水式で飼育すればよく，曝露試験の手間が大幅に軽減される。そのため，本手法を用いることにより，NPAHsだけでなくその他の化学物質についても，メス卵巣に移行した化学物質の胚に及ぼす影響を，より簡便な化学物質移植法で見ることが可能になると考えられる。

本研究では両対照区において，卵中からNPAHsが検出された（Table 7）。1-ニトロナフタレンおよび

Table 9. Effects of 1-nitronaphthalene or 1-nitropyrene on hatchability, days to hatch, survival, and growth of embryos obtained from ovulated mummichog, *Fundulus heteroclitus*, implanted with a cholesterol pellet with the test chemicals[a]

	Total no. of embryos used	Conc. of test chemical in embryos (μg/g wet wt.)	Hatchability (%)	Days to hatch	Survival at 4 weeks (%)	Growth at 4 weeks	
						Body weight (mg)	Total length (mm)
1-nitronaphthalene test							
Control group[b]	60	0.103	67±4.7	11.3±0.325	89±5.2	30.1±0.619	14.8±0.239
Low-dose group[c]	60	0.447	33±2.7[g]	12.2±0.668	83±12	40.7±4.90	14.7±0.656
High-dose group[d]	5	273	40[h]	10.5[h]	100[h]	59.3±11.3[h]	17.5±1.01[h]
1-nitropyrene test							
Control group[b]	52	0.00005	77±4.4	11.8±0.287	88±5.7	39.6±2.44	13.9±0.257
Low-dose group[e]	52	0.344	52±11	11.9±0.234	93±4.8	41.2±3.64	14.6±0.279
High-dose group[f]	52	0.958	52±3.7[g]	11.4±0.142	97±3.1	42.6±4.04	14.3±0.448

[a] Data are expressed as means ± standard error.
[b] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with no added chemicals.
[c] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 60 μg 1-nitronaphthalene.
[d] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 1200 μg 1-nitronaphthalene.
[e] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 3 μg 1-nitropyrene.
[f] Eggs obtained from 10 ovulated fish, each implanted with a pellet with 60 μg 1-nitropyrene.
[g] Significantly different from the control value ($P<0.05$).
[h] Data insufficient for use in the statistical analysis.

1-ニトロピレンの大阪湾二枚貝中濃度はそれぞれ438-5,222および<2.5-305 pg/g dryと報告されており（Uno et al., 2011），本研究の対照区における濃度と同程度であった。そのため低濃度ではあるが，配合飼料あるいは飼育水中に含まれるNPAHsの生物濃縮が影響している可能性が推測される。

ペレット移植1週後の1-ニトロナフタレン高移植区では，観察した510個の受精卵の中で正常胚はわずか5個しか得られず，高移植区における胚正常発生率は移植1週後の対照区よりも低かった（Table 8）ため，魚卵巣中の高濃度1-ニトロナフタレンは卵の成熟に影響を及ぼすことが示唆された。4週間の再生産毒性試験では，胚正常発生率が1-ニトロピレン高移植区において有意に減少したが，1-ニトロナフタレン高移植区では有意に減少しなかった（Table 8）。ペレット移植4週間の平均卵中濃度をモル濃度に換算して比較すると1-ニトロナフタレン低移植区および高移植区ではそれぞれ1.98および396 nmol/g wet wt.，1-ニトロピレン低移植区および高移植区ではそれぞれ0.932および2.90 nmol/g wet wt.であった。1-ニトロナフタレン高移植区の平均卵中濃度が，対照区と比べて有意差が認められた1-ニトロピレン高移植区の平均卵中濃度より高いにもかかわらず，1-ニトロナフタレン暴露で強い影響が認められなかったため，卵発生に対する毒性は1-ニトロピレンの方が強いものと推測される。

1-ニトロナフタレン試験における対照区の胚正常発生率は1-ニトロピレン試験における対照区よりも低かった（Table 8）。この結果は1-ニトロナフタレン試験の試験時期がマミチョグの適切な再生産の時期から外れていたことを示唆している。日本に移入したマミチョグの性成熟は，水温などの諸条件により変化はあるものの，3月から8月末と報告されている（Shimizu, 1997）。1-ニトロピレンおよび1-ニトロナフタレン試験はそれぞれ6月および8月に実施し，両試験の水温などの水質は同じになるようにコントロールしたが，8月は受精卵を得られたものの，正常な発達をする受精卵の割合が低かったと推測される。

ふ化率は今回検討した被検物質に共通して最も感受性の高い指標であった（Table 9）。1-ニトロナフタレン高移植区における4週後の成長（体重および全長）が対照区よりも大きかったが，これはおそらく高濃度区で用いた胚の数が少なく，この区の収容密度が対照区よりも低かったことを反映していると考えられる。1-ニトロピレン高移植区においてペレットから移行した1-ニトロピレンにより，魚胚正常発生率およびふ化率が有意に低下することを明らかにした（Table 8, 9）。そのため，化学物質が卵巣を経由し胚へ移行することは，魚の再生産への毒性影響を調べる際に重要な要素であると考えられる。

Michigan湖で採取した淡水魚Lake trout（*Salvelinus namaycush*）の卵巣中における11種NPAHs（1-ニトロナフタレン，2-ニトロナフタレン，2-ニトロビフェニル，3-ニトロビフェニル，4-ニトロビフェニル，5-ニトロアセナフテン，2-ニトロフルオレン，9-ニトロアントラセン，9-ニトロフェナントレン，1-ニトロピレン，6-ニトロクリセン）の合計濃度は0.81-130 pg/g wet wt.であり，魚体中における9種NPAHs（1-ニトロナフタレン，2-ニトロナフタレン，2-ニトロビフェニル，3-ニトロビフェニル，5-ニトロアセナフテン，2-ニトロフルオレン，9-ニトロアントラセン，9-ニトロフェナントレン，1-ニトロピレン，6-ニトロクリセン）の合計濃度0.2-31 pg/g wet wt.（4-ニトロビフェニルおよび9-ニトロフェナントレンは魚体中における検出率が30%未満のため合計値に含まれていない）より有意に高く，魚体

Table 10. Effects of 1-nitronaphthalene or 1-nitropyrene on hatchability, days to hatch, survival, and growth of embryos obtained from ovulated mummichog, *Fundulus heteroclitus*, implanted with a cholesterol pellet with the test chemicals [a]

	Toxicity values based on concentration in eggs (ng/g wet)		Ratio of concentration in ovary to that in fish body [a]	Reported BCF (L/kg)	Toxicity values based on concentration in water (μg/L) [b]		PEC (ng/L)
	4-week LOEC	4-week NOEC			4-week LOEC	4-week NOEC	
1-nitronaphthalene	447	-	2.51	93.3	1.9	-	3.7
1-nitropyrene	958	344	0.98	111 [c]	8.8	3.2	1.0

LOEC, lowest-observed-effect concentration; NOEC, no-observed-effect concentration; BCF, bioconcentration factor; PECs are the highest reported concentrations including estimated concentration.in river water and sea water.

[a] The ratio of concentration in the ovary to that in the fish body in the control group in Nitro-PAH transfer tests.

[b] The toxicity values are estimated from toxicity values based on concentration in eggs, dividing by the ratio of concentration in the ovary to that in the fish body and reported bioconcentration factor.

[c] Average reported bioconcentration factor.

中および卵巣中のNPAHsプロファイルは類似していた（Huang, 2014）。上記と同じ試料中の９種PAHs，５種ステラン，および２種ホパンを測定した結果，９種PAHsの卵巣中における合計濃度は魚体中よりも有意に低く，５種ステランの合計濃度および２種ホパンの合計濃度については卵巣中および魚体中濃度は同程度の濃度であった（Huang, 2014）。NPAHs移行試験における対照区の全期間を通じた卵巣および魚体中１-ニトロナフタレンおよび１-ニトロピレンの濃度比は2.51±0.24および0.98±0.05であった（**Fig. 2 a, b**）。これらのことからNPAHsは種類によって卵巣中濃度が魚体中濃度よりも数倍程度高くなると考えられ，物質の種類により卵巣中濃度と魚体中濃度の比は異なる可能性が考えられた。そのため，自然環境中の濃度比と近似している可能性のあるNPAHs移行試験対照区の１-ニトロナフタレンおよび１-ニトロピレンの卵巣および魚体中の濃度比と，それぞれの物質の生物濃縮係数（BCF）を用いて卵中濃度を基にした毒性値から水中濃度を基にした毒性値を推測した。

$LogK_{ow}$から推測された１-ニトロナフタレンの生物濃縮係数（BCF）は93.3（BCFの対数値：1.97）と報告されている（Yaffe et al., 2001）。卵中濃度を基にした１-ニトロナフタレンのLOEC（0.447 μg/g wet wt.）を，NPAHs移行試験における対照区の卵巣および魚体中１-ニトロナフタレンの平均濃度比2.51（**Fig. 2 a**）で除して魚体内濃度を推定し，さらにこの推定値を，報告された生物濃縮係数（93.3 L/kg）で除すと水中濃度のLOECが1.9 μg/Lと推測できる（**Table 10**）。１-ニトロナフタレンの最高検出濃度は日本の河川における3.7 ng/L（Murahashi et al., 2001）であり，また，環境動態モデルを用いて推測されたカリフォルニア地域の水中（Yaffe et al., 2001）およびミシガン湖水中（Huang and Batterman, 2014）の１-ニトロナフタレン濃度はそれぞれ1.0および11.7 ng/Lであった。これらの濃度は推測した毒性値より２桁以上低かった（**Table 10**）。１-ニトロナフタレンのNOECが上記水中LOEC推定値1.9 μg/Lの１/1000であることは考えにくく，むしろ1.9 μg/Lに近い値であることが考えられることから，日本の河川水中１-ニトロナフタレンのリスクは低いものと考えられる。また，ミシガン湖で採取されたLake trout（*Salvelinus namaycush*）の卵巣中１-ニトロナフタレン濃度は0.03-2.19 pg/g wet wt.（Huang, 2014）であり，卵中濃度を基にした１-ニトロナフタレンのLOEC（0.447 μg/g wet wt.）より５桁以上低い濃度であり，この比較からも魚類再生産に及ぼす１-ニトロナフタレンのリスクは低いものと考えられる。

NPAHsの魚類における餌および水からの生物濃縮に関する報告では，１-ニトロピレンの生物濃縮係数（BCF）は71-151 L/kgの範囲（Bacolod et al., 2013a）であり，biomagnification factor（BMF）は0.008（Bacolod et al., 2013b）であった。１-ニトロピレンの卵中濃度を基にしたNOECおよびLOEC（NOEC, 0.344 μg/g wet wt.; LOEC, 0.958 μg/g wet wt.）を，NPAHs移行試験における対照区の全期間を通じた卵巣および魚体中１-ニトロピレンの濃度比の平均値0.98（**Fig. 2 b**）で除し，さらに上記（Bacolod et al., 2013a）の生物濃縮係数の平均値（111 L/kg）で除すと，水中濃度を基にしたNOECおよびLOECがそれぞれ3.2および8.8 μg/Lと推測できる（**Table 10**）。この推測したNOECおよびLOECは報告された水中における最高濃度１ ng/L（Ohe and Nukaya, 1996）や環境動態モデルを用いて推測されたカリフォルニア地域の水中（2.9 ng/L, Yaffe et al., 2001）およびミシガン湖水中の１-ニトロピレン濃度（0.17 ng/L, Huang and Batterman, 2014）より千倍以上高かった（**Table 10**）。卵内濃度から水中濃度であるNOECあるいはLOECを推定していることから，不確実性の高い可能性がある。これを考慮して上記で推定したNOECあるいはLOECを安全係数10あるいは100で除したとしても依然として水中濃度の報告値は，これらの推定値を下回っている。また，ミシガン湖で採取されたLake trout（*Salvelinus namaycush*）の卵巣中１-ニトロピレン濃度は＜0.002-87.61 pg/g wet wt.（Huang, 2014）であり，卵中濃度を基にした１-ニトロピレンのNOECおよびLOEC（NOEC, 0.344 μg/g wet wt.; LOEC, 0.958 μg/g wet wt.）より３桁以上低い濃度であった。以上のことから，現在のところ，１-ニトロナフタレンおよび１-ニトロピレンの環境中濃度における魚類再生産に及ぼす影響はほとんどないと考えられた。

3.4 まとめ

本章においては，NPAHsの沿岸海洋生態系への影響評価に資することを目的として，１-ニトロナフタレンおよび１-ニトロピレンを被験物質とし，被検物質を含んだコレステロールペレットを排卵前のマミチョグメスに移植し，被検物質の受精卵への移行試験を実施した。さらに，コレステロールペレットを介した被検物質移植後における受精卵の胚正常発生率への影響を調べるとともに，被験物質の移行した正常な受精卵を４週間飼育し，移行した被験物質の成長および生残に及ぼす影響を検討した。

コレステロールペレット移植によるNPAHsの移行試験の結果，抱卵魚中の卵に化学物質を移行させる手法として，コレステロールペレット移植法の有効性を確認した。また，この手法を用いて魚類再生産に及ぼす影響を検討した結果，ふ化率は今回検討した被検物質に共通して最も感受性の高い指標であり，この指標から卵中実測濃度を基にした毒性値を明らかにした。これらの毒性値をNPAHs移行試験における対照区の卵巣および魚体中濃度の比と，報告されたBCFを用いて，水中濃度を基にした毒性値に変換し，報告された環境水中濃度と比較した結果，環境水中濃度は推測した毒性値より3桁程度低く，不確実性を考慮しても現在の環境中濃度レベルの1-ニトロナフタレンおよび1-ニトロピレンが魚類再生産に及ぼす影響はほとんど無いと考えられた。

環境中に放出された化学物質は環境中の物理的および化学的な作用に曝されており，本研究の被検物質であるNPAHsも環境中において同様の作用を受けている。NPAHsと分子構造の近いピレン等のPAHsは紫外線照射により，海産生物に対する毒性が強まり，これらの光毒性は活性酸素種（ROS）が主な原因と考えられている（Fu et al., 2012）。4-ニトロピレンなど一部のNPAHsは紫外線照射によりROSを発生する（Xia et al., 2013）ため，太陽光はNPAHsの環境影響に大きな影響を及ぼす可能性がある。そのため，NPAHsの海産生物に対する毒性の光照射による変化について次章以降で検討を加える。さらに，光照射による毒性の変化の原因についてROSの影響が想定されていることから，次章以降で光毒性の原因についてROSおよび光分解物の発生の両面から検討を加えることとした。

第4章　海産生物に対する毒性の光照射による変化

環境中に放出された化学物質は環境中の物理的および化学的な作用に曝される。本研究の被検物質であるNPAHsと構造が近いピレンなどのPAHsや環境中のPAHs混合物はUV-Aなどの紫外線照射により，海産生物に対する毒性が強まった（Newsted and Giesy, 1987；Pelletier et al., 1997；Swartz et al., 1997；Huang et al., 1997）。光により励起されたPAHsは活性種，主に活性酸素種（reactive oxygen species, ROS）やPAH由来のフリーラジカル，過酸化脂質などを生成し，これらは様々な細胞組織に損傷を与え，急性毒性や遺伝毒性を誘導する（Fu et al., 2012；Lampi et al., 2005；Arfstena et al., 1996）。PAHsの一種であるベンゾ［a］ピレンの光毒性は一重項酸素のスカベンジャーであるアジ化ナトリウム（NaN_3）により阻害され（Ibuki and Goto, 2002），光照射されたPAHsにより誘導された過酸化脂質は，フリーラジカルまたは一重項酸素のスカベンジャーであるジチオスレイトール（dithiothreitol, DTT）やNaN_3，スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）により誘導が阻害され，一重項酸素の寿命を延ばす重水（D_2O）により誘導が強まった（Xia et al., 2006）。

4-ニトロピレンや6-ニトロベンゾ［a］ピレンなど数種のNPAHsに，紫外光（UV）の一部UV-Aを照射すると，ROSやフリーラジカルが光照射時間依存的に生成した（Xia et al., 2013）。光照射によるNPAHs分解過程で産生されたROSなどによって誘導された過酸化脂質はNaN_3により誘導が阻害され，一重項酸素の寿命を延ばす重水素化メタノールにより誘導が強まった（Xia et al., 2013），また，光強度依存的に過酸化脂質が生成した（Xia et al., 2013）。これらのことから，NPAHsの水生生物に対する毒性は光照射により強まる可能性が推測される。本研究の被検物質であるNPAHsは主にPM 2.5などの粒子状物質に吸着されており，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入し，最終的には沿岸海域に流入することが想定され，その過程で光毒性の発揮される可能性がある。しかし，光照射条件下におけるNPAHsの海産生物に対する毒性影響の報告例は見あたらず，NPAHsの沿岸海域における環境影響を評価するには既存の情報では不十分である。

本研究では，第2章において栄養段階の異なる海産生物，藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，および魚類マミチョグ，マコガレイに対するニトロアレーンの急性毒性影響を検討した。また，第3章においては魚類マミチョグを用いて，慢性毒性試験の代替法としてコレステロールペレット移植試験を実施し，試験結果に基づいてNPAHsの慢性毒性値を推定した。これらの試験生物の中で，シオダマリミジンコについては多くの重要なバイオマーカー遺伝子のシークエンスや，バイオマーカーの有害化学物質暴露への応答が研究され，シオダマリミジンコが生態毒性機構解明のためのモデル生物としての適性を備えている（Raisuddin et al., 2007）。また，シオダマリミジンコのノープリウス期幼生は光を透過するため，光照射による毒性変化を反映しやすいと考えられることから，今回光照射による毒性変化を見る種として選定した。

本章ではNPAHsの沿岸海洋生態系への影響評価に資することを目的として，まず，10種のNPAHsを被検物質とし，シオダマリミジンコを用いて，明条件および暗条件で24時間の遊泳阻害試験を行い，光条件の

違いにより毒性がどの程度変化するのかを検討した。また，光照射により最も毒性の強まった1-ニトロピレンについて，光照射による分解産物を同定した。光毒性による遊泳阻害の検証を行い，さらに，1-ニトロピレンの分解産物が，光照射時における1-ニトロピレンの毒性変化に寄与しているかを明らかにするため，1-ニトロピレン分解産物およびピレンのシオダマリミジンコに対する毒性影響を検討した。

一方，アスコルビン酸（AA）はフリーラジカルや-重項酸素のスカベンジャーとして報告されている（Machlin and Bendich, 1987）。光毒性による酸化ストレスでシオダマリミジンコの遊泳阻害が起こることを検証するため，AA添加または無添加の条件下で，光照射による1-ニトロピレンのシオダマリミジンコに対する毒性の変化と，光照射した際発生したROS濃度との関連性を検討した。

4.1 試料と方法

4.1.1 被検物質および試験生物

1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，3-ニトロフルオランテン，3-ニトロフェナントレン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，および6-ニトロクリセンはSigma-Aldrich（St. Louis, 米国）から，1,5-ジニトロナフタレン，2,7-ジニトロフルオレンおよび1-ニトロピレンは東京化成工業（東京）から，1-ヒドロキシピレン，1-アミノピレン，ピレン，およびAAは和光純薬工業（大阪）から，それぞれ購入した。被験物質の水溶解度が低いため，溶解助剤としてアセトン（残留農薬分析用，和光純薬工業，大阪）を用い，それぞれの被検物質のアセトン溶液（20 mM）を試験原液とした。これらの試験原液をろ過海水で2000倍に希釈し，試験液とした。後述の甲殻類遊泳阻害試験における助剤対照区のアセトン濃度は500 µl/Lとした。

試験生物としてシオダマリミジンコを用いた。試験生物の入手先，培養方法，ノープリウス期幼生の収集法は第 -章で前述した方法と同様であった。ノープリウス期幼生は甲殻類遊泳阻害試験に用いた。

4.1.2 光照射条件

光照射試験はグロースチャンバー（MLR-350，三洋電機，大阪）を用い，照明として太陽光の波長を再現した蛍光灯（波長290-700nm, TRUE-LITE, 32W 3825EX-SS, Light sources, Orange, 米国）を用いた。後述の甲殻類遊泳阻害試験ではこの蛍光灯を3本用い，可視光（波長400-700 nm），UV（波長280-400 nm），およびUV-B（波長280-320 nm）の光強度はそれぞれ12，0.019および<0.001 W/m^{2}であった。光分解産物を同定するため，後述の光分解試験ではより強い光を照射した。上記の蛍光灯を15本用い，可視光（波長400-700 nm），UV（波長280-400 nm），およびUV-B（波長280-320 nm）の光強度はそれぞれ41，0.072および<0.001 W/m^{2}であった。この可視光の光強度は照度（lux）の値を報告された日中の太陽光における定数（Thimijan, and Heins, 1983），4.57（µmol/s/m^2）/（W/m^2）および54 lux/（µmol/s/m^2）で割り，算出した。可視光の照度およびUVの光強度は照度計（LX-1000，カスタム，東京）および紫外線強度計（Solarmeter models 5.7および6.2，Solartech, Harrison Township, 米国）をそれぞれ用いた。

自然太陽光の年平均日射量は180-480 W/m^{2}と報告されている（IPCC, 2001）。ASTM G173-03の参照スペクトルデータ（ASTM, 2003）から，エネルギーに関しては，地球表面上の太陽光の43%が可視光（400-700 nm），4%がUV（<400 nm）と推定される。そのため，可視光およびUVの光強度はそれぞれ77.4-206 W/m^{2}および7.20-19.2 W/m^{2}と推定できる。水環境中では，水中における光の減衰は水質に関係することが示されている。可視光の垂直拡散減衰定数は0.10-5.73 /mの範囲（Morris et al., 1995）で，UV-Aの10%照射深度は0.3-46 mの範囲（Tedetti and Sempéré, 2006）でそれぞれ変化する。

シオダマリミジンコは潮だまりなど水深の浅い所に生息するため，生息範囲と考えられる水深1 mにおける自然太陽光の可視光およびUVの光強度を推測し，光照射試験の光強度と比較した。

光の水中減衰はランベルト・ベールの法則から

$$I_z = I_0 e^{-az} \quad (1)$$

で表せる。ここでI_zは水深Zmにおける光強度，I_0は水面直下の光強度，Zは水深（m），aは減衰定数（/m）で表される。（1）式に可視光の垂直拡散減衰定数と推定した可視光の光強度を当てはめて計算すると，水深1 mにおける自然太陽光の可視光の光強度は，0.25 W/m^2（77.4 W/m^2 × $e^{-5.73/m \times 1m}$）から190 W/m^2（206 W/m^2 × $e^{-0.10/m \times 1m}$）と推定できる。

また，（1）式から（2）式が得られ，

$$a = -z \ln (I_z/I_0) \quad (2)$$

この式を用いてUV-Aの10%照射深度から減衰定数を求めると0.00501-7.68 /mとなり，この値を用いて，

可視光と同様に（1）式から水深１mにおける自然太陽光のUV光強度を推定すると0.0033 W/m^2（7.20 W/$m^2 \times e^{-7.68/m \times 1m}$）から18 W/$m^2$（19.2 W/$m^2 \times e^{-0.00501/m \times 1m}$）であった。そのため，本研究における光照射条件（可視光強度：12-41 W/m^2，UV光強度：0.019-0.072 W/m^2）はシオダマリミジンコの生息環境において推測された光強度範囲に含まれており，生息環境における光条件をほぼ反映していると推測された。

4.1.3 甲殻類急性遊泳阻害試験

10種類のニトロアレーンを被検物質とし，シオダマリミジンコのノープリウス期幼生を用いて，上述の明条件および暗条件下で24時間の遊泳阻害試験を行った。12穴の培養プレート（Thermo Fisher Scientific, Waltham, 米国）に１穴あたり２ mLの試験液と幼生５個体を収容し，20℃に設定したグロースチャンバー（MLR-350, 三洋電機，大阪）内で試験を行った。被検物質の海水中濃度は0.01，0.1，１，および10 μMに設定し，高濃度から開始して明条件下で遊泳阻害率50％未満になるまで続けた。試験は10回繰り返し実施した。試験終了後，容器内を緩やかにかき混ぜ，付属肢を動かすことができても15秒間遊泳しないものを遊泳阻害個体とした。助剤対照区（アセトン500 μl/L）についても試験を10回繰り返し実施し，明条件および暗条件下における遊泳阻害率はそれぞれ4.0±2.7および0.0±0.0％であった。

光照射によって生成した１-ニトロピレンの光分解物１-ヒドロキシピレン，１-アミノピレン，および関連物質ピレンの毒性への寄与を明らかにするため次の試験を実施した。１-ヒドロキシピレン，１-アミノピレン，およびピレンの海水中濃度を0.01，0.1，１，および10 μMに設定した。助剤対照区（アセトン500 μl/L）についても同様に設定し，試験を８回繰り返した。また，上記の物質以外の光分解物が微量に生成し，光照射による毒性変化に寄与する可能性について確認するため，次の試験を実施した。光条件下で影響が認められた１-ニトロピレン10 μMと助剤対照区（アセトン500 μl/L）を暗条件および明条件下で24時間置いた後，１穴あたりこの試験液２ mLと幼生 ５個体を収容し，暗条件および明条件下で24時間曝露試験を実施した。試験は６回繰り返し実施した。光条件の組み合わせは明・明，明・暗，暗・明，および暗・暗の４通りとした。試験終了後，上記の方法で遊泳阻害個体数を確認した。また，ノープリウス期幼生を用いて，後述のROS発生試験の試験液についても曝露試験を実施し，30または60分おきに遊泳阻害個体数を確認した。試験は６回繰り返し実施した。

4.1.4 光分解試験

光分解試験は10 mLガラス試験管に２ μM １-ニトロピレンアセトン溶液５ mLを収容し，グロースチャンバー（MLR-350）内で明条件および暗条件下で20℃，24時間の試験を実施した。明条件では，太陽光の波長を再現した蛍光灯（TRUE-LITE, 32W 3825EX-SS）を15本用いた。光照射開始時および24時間照射時にこれらの試験液を採取し，GC-MSの分析に供した。キャピラリーカラムHB５-MS，30m, 0.25mmID（Agilent Technologies, Santa Clara, 米国）を装着したGC/MS（Agilent, 6890N, 5975 inert; Yokogawa Analytical Systems, 東京）を用い，電子イオン化法で測定モードをSCANとして測定した。注入口の温度は280℃とし，検出器の部分に290℃の温度をかけ，質量分析計のイオン源部分に240℃の温度を得た。カラム温度は100℃で２分間保持した後，20℃/分で200℃まで昇温，引き続き５℃/分で320℃まで昇温後，14分間保持した。ヘリウム流量は1.0 mL/minとし，分析時間は45分であった。得られたデータはデータ閲覧ソフト（ChemStation, Agilent Technologies, Santa Clara，米国）で解析し，検出したピークをNIST 2008 MS library bundle（Agilent Technologies, Santa Clara，米国）のデータと照合して，同定した。

4.1.5 活性酸素種（ROS）生成試験

ROS生成試験は100 mLのネジ口三角フラスコに100 mLの試験液を収容して実施した。試験液は0.01，0.1，１，および10 μMの１-ニトロピレンろ過海水溶液を用い，助剤対照区として500 μL/Lのアセトンろ過海水溶液を用いた。これらの試験液を暗条件または甲殻類遊泳阻害試験と同じ明条件下で20℃，210分間試験した。これらの試験液の一部は甲殻類遊泳阻害試験に供し，30または60分毎に遊泳阻害個体を確認するとともに，これらの試験液中のROSを60分毎に測定した。

明条件下および暗条件下の10 μMニトロピレン海水溶液の活性酸素種（ヒドロキシラジカル，ペルオキシナイトライト，次亜塩素酸イオン，一酸化窒素）の経時変化を測定し，同時系列の遊泳阻害率と比較した。また，明条件下の10 μMニトロピレン海水溶液に抗酸化剤であるアスコルビン酸を添加し，活性酸素種の濃度および遊泳阻害率の抑制効果を調べた。活性酸素種の測定は，積水メディカ

ル（東京）の活性酸素種蛍光プローブAminophenyl Fluorescein（APF），Hydroxyphenyl Fluorescein（HPF），Diaminorhodamine- 4 M AM（DAR- 4 M AM）を使用し，励起/蛍光波長はそれぞれ485/535 nm，485/535 nm，および544/590 nmで測定した。APFは，ヒドロキシルラジカル，パーオキシナイトライト，次亜塩素酸イオンと反応し，HPFはヒドロキシラジカルとパーオキシナイトライトと反応し（Setsukinai et al., 2003），DAR-4 M AMは一酸化窒素と反応する基質（Kojima et al., 2001）である。全ての試験液は，使用した海水と同じpH 8.3に調整し，活性酸素種の蛍光プローブは試験液で1000倍に希釈して使用した。

4.1.6 統計解析

甲殻類遊泳阻害試験における遊泳阻害の処理間の違いの有意差検定には，データの分散が等分散でないため，Mann-WhitneyのU test（$P<0.05$）を用いた。また，ROS生成試験における遊泳阻害および比較蛍光強度の違いの有意差検定には，Tukeyの多重比較（$P<0.05$）を用いた。統計解析にはSPSS社（東京）のSPSS 13.0J for Windowsを用いた。

4.2 結　果

4.2.1 光照射によるNPAHsの毒性変化

シオダマリミジンコノープリウス期幼生を用いて毒性の変化を検討した10種類のNPAHsのうち，1,5-ジニトロナフタレンを除く9種類は，暗条件よりも明条件で高い遊泳阻害率を示した（Table 11）。1-ニトロピレンは，全ての濃度区（0.01-10 μM）において，明条件下で遊泳が阻害され，暗条件下と比較して有意に明条件下の遊泳阻害率が高かった。3-ニトロフルオランテンは0.1，1，および10 μMの濃度区にお

Table 11. Effects of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons on immobilization of *Tigriopus* in dark or under irradiation with environmental level light (290-700 nm, a visible light and UV intensity; 12 and 0.019 W m^{-2}, respectively) after 24 hours

Chemical	Condition	Immobilization of each dose (%)			
		0.01 μM	0.1 μM	1 μM	10 μM
1-nitropyrene	Light	28 ± 6.1*	100 ± 0.0*	100 ± 0.0*	100 ± 0.0*
	Dark	2.0 ± 2.0	2.0 ± 2.0	4.0 ± 2.7	4.0 ± 2.7
3-nitrofluoranthene	Light	8.0 ± 3.3	72 ± 6.8*	100 ± 0.0*	100 ± 0.0*
	Dark	6.0 ± 3.1	2.0 ± 2.0	4.0 ± 2.7	26 ± 8.5
2-nitrofluorene	Light	n.d.	0 ± 0.0	34 ± 5.2*	100 ± 0.0*
	Dark	n.d.	6.0 ± 3.1	8.0 ± 4.4	10 ± 4.5
3-nitrophenanthrene	Light	n.d.	4.0 ± 2.7	30 ± 5.4*	98 ± 2.0*
	Dark	n.d.	4.0 ± 2.7	6.0 ± 3.1	78 ± 7.0
1-nitronaphthalene	Light	n.d.	n.d.	2.0 ± 2.0	100 ± 0.0*
	Dark	n.d.	n.d.	4.0 ± 2.7	8.0 ± 4.4
1,3-dinitropyrene	Light	n.d.	n.d.	10 ± 3.3	100 ± 0.0*
	Dark	n.d.	n.d.	11 ± 4.6	0.0 ± 0.0
2,7-dinitrofluorene	Light	n.d.	n.d.	8.0 ± 4.4	32 ± 4.4*
	Dark	n.d.	n.d.	10 ± 4.5	8.0 ± 3.3
6-nitrochrysene	Light	n.d.	n.d.	8.0 ± 4.4	24 ± 5.0*
	Dark	n.d.	n.d.	2.0 ± 2.0	4.0 ± 2.7
1,6-dinitropyrene	Light	n.d.	n.d.	n.d.	16 ± 4.0*
	Dark	n.d.	n.d.	n.d.	2.0 ± 2.0
1,5-dinitronaphthalene	Light	n.d.	n.d.	n.d.	10 ± 4.5
	Dark	n.d.	n.d.	n.d.	6.0 ± 4.3

Values in each test group are expressed as means ± standard error in 10 trials. Asterisk indicate a significant difference between light and dark groups, respectively (* $P < 0.05$, Mann-Whitney U-test). The immobilization of *Tigriopus* as control were 0.0 ± 0.0 and 4.0 ± 2.7 %, respectively in dark or under irradiation with environmental level light with solvent. n.d. means no data.

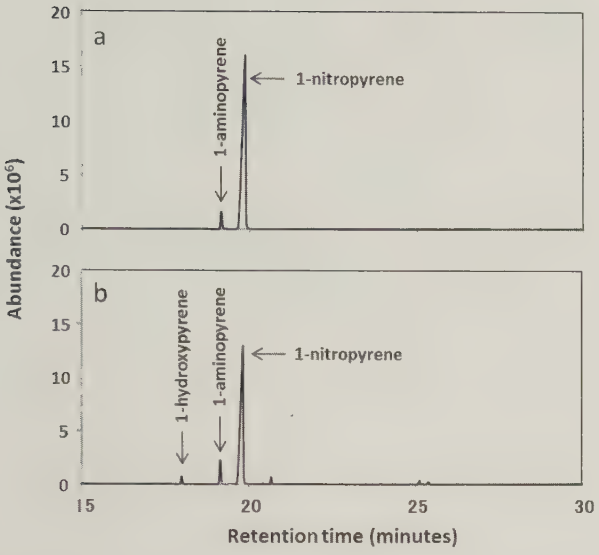


Fig. 3. TICs of the initial solution of 2 μM of 1-nitropyrene in acetone (a) and the solution by irradiation with 290–700 nm light for 24 hours (b) using GC-MS analysis.

いて，2-ニトロフルオレンと3-ニトロフェナントレンは1および10 μMの濃度区において，1-ニトロナフタレン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，6-ニトロクリセン，および2,7-ジニトロフルオレンは10 μMの濃度区において，明条件で遊泳阻害が認められ，暗条件下と比較して有意に明条件下の遊泳阻害率が高かった（Table 11）。

4.2.2 1-ニトロピレンの光照射による光分解産物の同定

試験開始時および光照射24時間後の2 μM 1-ニトロピレンアセトン溶液をGC-MSで分析し，TICを得た（Fig. 3）。光照射溶液のTICから5種類の分解産物が検出され，NISTデータベースと照合したところ，これらのうち2種は1-ヒドロキシピレンおよび1-アミノピレンと同定された（Fig. 3 a）。1-アミノピレンは光照射前の溶液のTICからもピーク強度1.6 x 10^6で検出されたものの，光照射後の溶液ではピーク強度2.2 x 10^6で検出され，ピーク強度が約1.4倍強くなった（Fig. 3 a, b）。甲殻類毒性試験における光条件下で24時間照射した1-ニトロピレンアセトン溶液および暗条件下における24時間後の同溶液のTICは試験開始前のTICとほぼ同様であり，甲殻類遊泳阻害試験の光条件で24時間照射した1-ニトロピレンアセトン溶液からは1-アミノピレン以外の分解産物は検出されなかった。

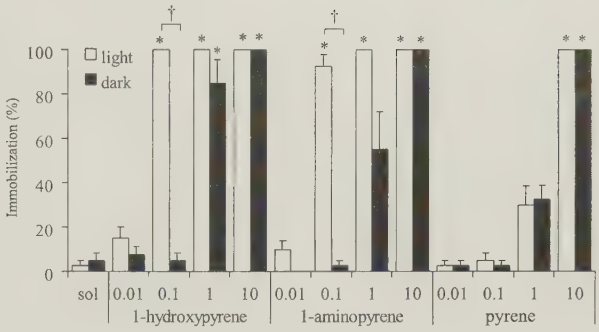


Fig. 4. Effects of pyrene-related substances on the immobilization of *Tigriopus japonicus* after exposure to the dark or artificial environmental light conditions for 24 h. Values are expressed as means ± standard error of the mean of 8 trials. †, $p < 0.05$, Mann–Whitney U-test between the light- and dark-exposed groups at the same concentration of chemical substance; *, $p<0.05$, Tukey post-hoc test versus the solvent-only control (sol) under the same lighting condition.

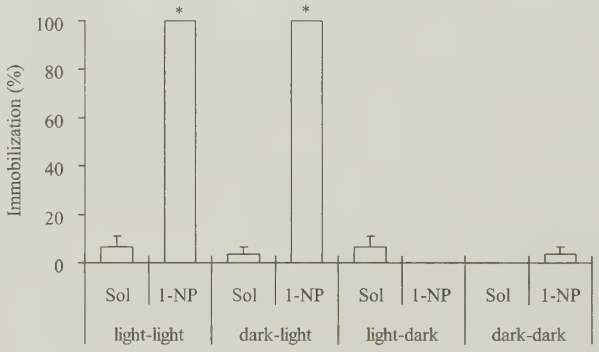


Fig. 5. Effects of nitropyrene on the immobilization of *Tigriopus japonicus* under various combinations of exposure to dark and artificial environmental light conditions. Solutions of 10 μM 1-nitropyrene (1-NP) and the solvent-only control (sol) were exposed to either light or dark conditions for 24 h, after which nauplii were exposed to these solutions under light or dark conditions for 24 h. Values are expressed as means ± standard error of the mean of 6 trials. *, $p<0.05$, Mann–Whitney *U*-test between light and dark groups.

4.2.3 光照射による1-ニトロピレン関連物質の毒性変化

シオダマリミジンコノープリウス期幼生を用いて毒性の変化を検討した1-ヒドロキシピレンおよび1-アミノピレンは暗条件下よりも明条件下で高い遊泳阻害率を示した（Fig. 4）。1-ヒドロキシピレンおよ

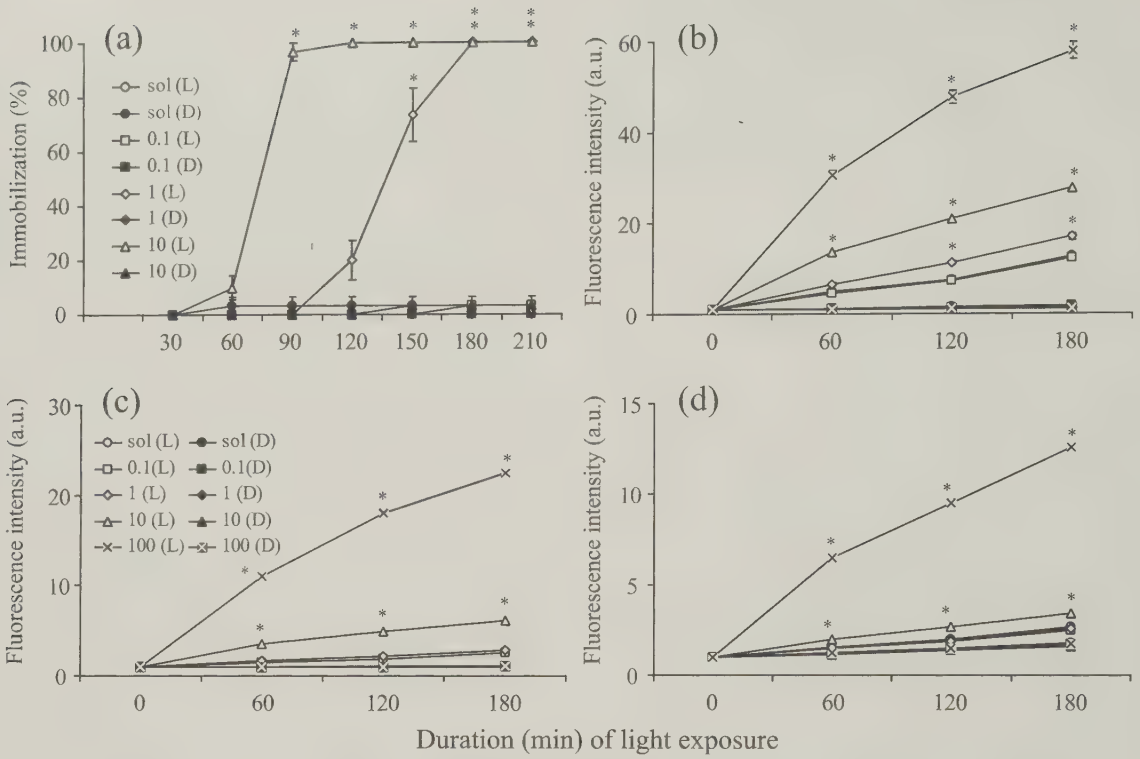


Fig. 6. Effects of light on (a) immobilization of *Tigriopus japonicus* and the quantities of various reactive oxygen species (ROS) as indicated by fluorescence intensity of (b) aminophenyl fluorescein (APF; labels hydroxyl radical, peroxynitrite, and hypochlorous acid ion), (c) hydroxyphenyl fluorescein (HPF, binds to hydroxyl radical and peroxynitrite), and (d) diaminorhodamine-4M acetoxymethyl ester (DAR-4M AM, for measurement of nitric oxide) in the presence of 1-nitropyrene (1-NP). The doses of 1-NP were 0.1, 1, and 10 μM for the immobilization test and 0.1, 1, 10, and 100 μM for the ROS assay. Values are expressed as means ± standard error (immmobilization, n = 6 ; ROS, n = 4). *, $p<0.05$, Tukey post-hoc test between 1-NP and solvent-only (sol) groups under the same lighting conditions. D, dark; L, light. a.u. means arbitrary unit.

び1-アミノピレンは0.1, 1, および10 μMの濃度区において明条件下で遊泳が阻害され，暗条件下では1 μMと10 μMの濃度区において遊泳が阻害された（**Fig. 4**）。0.1 μMの濃度区において，暗条件下と比較して有意に明条件下の遊泳阻害率が高かった。ピレンでは1および10 μMの濃度区において，明暗両条件下ともに遊泳が阻害されたものの，光条件の違いよる遊泳阻害率の有意差は認められなかった（**Fig. 4**）。

1-ニトロピレン10 μMの濃度区における明暗4つの組み合わせによる試験では，明明・暗明の試験区でシオダマリミジンコノープリウス期幼生の遊泳が阻害され，明暗・暗暗の試験区では阻害されなかった（**Fig. 5**）。

4.2.4 光照射による1-ニトロピレン溶液中におけるROSの生成

明条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生の遊泳阻害率は，1-ニトロピレン10 μM濃度区においては90分以降から，1 μM濃度区では150分以降から対照区と比べて有意に高かった（**Fig. 6 a**）。明条件下におけるAPFによる活性酸素種の検出は，1-ニトロピレン10および100 μM濃度区においては60分以降から，1 μM濃度区においては120分以降から蛍光強度が対照区よりも有意に高かった（**Fig. 6 b**）。明条件下におけるHPFとDAR-4 M AMによる活性酸素種の検出では，1-ニトロピレン10および100 μM濃度区において，60分以降から蛍光強度が対照区よりも有意に高かった（**Fig. 6 c, d**）。

AAの添加実験では，添加したAA濃度が高いほど遊泳阻害率の上昇が遅くなった（**Fig. 7 a**）。明条件下における1-ニトロピレン10 μM濃度区でのシオダマリミジンコノープリウス期幼生の遊泳阻害率は，AA無添加区およびAA 1 mM 添加区では60分以降から，AA10および100 mM 添加区では90分以降から対照区と比べて有意に高かった（**Fig. 7 a**）。また，各

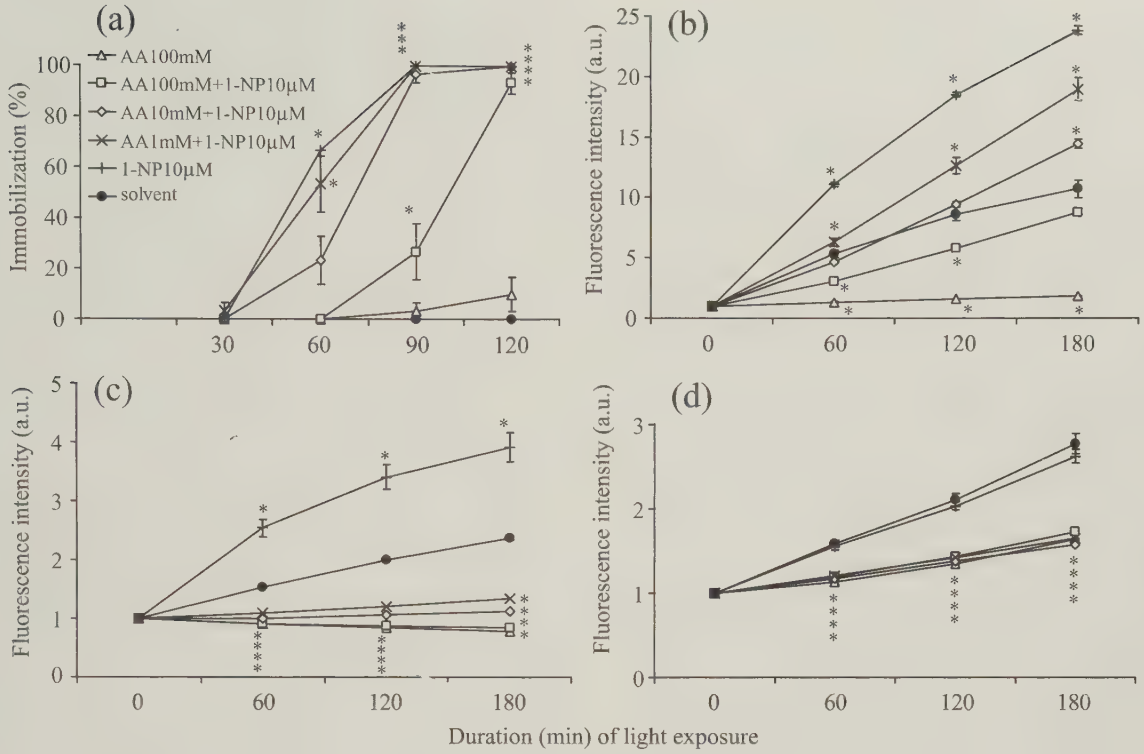


Fig. 7. Effects of ascorbic acid (AA) on (a) immobilization of *Tigriopus japonicus* and the quantities of various reactive oxygen species (ROS) as indicated by fluorescence intensity of (b) aminophenyl fluorescein (APF; labels hydroxyl radical, peroxynitrite, and hypochlorous acid ion), (c) hydroxyphenyl fluorescein (HPF, binds to hydroxyl radical and peroxynitrite), and (d) diaminorhodamine-4M acetoxymethyl ester (DAR-4M AM, for measurement of nitric oxide) in the presence of 1-nitropyrene (1-NP). Values are expressed as means ± standard error (immmobilization, n = 6; ROS, n=4). *, $p<0.05$, Tukey post-hoc test between 1-NP and the solvent-only (Sol) groups under the same lighting conditions. a.u. means arbitrary unit.

種蛍光プローブによる活性酸素種の濃度についても添加したAA濃度が高いほど蛍光強度の上昇が抑えられた（**Fig. 7 b, c, d**）。

4.3 考　察

本研究では，光強度が環境中レベルの光（波長290-700 nm，可視光および紫外光の光強度；それぞれ12および0.019 W/m^2）照射によるNPAHsのシオダマリミジンコノープリウス期幼生に対する毒性の変化を明らかにした。検討した10種類のNPAHsのうち1,5-ジニトロナフタレンを除く9種類は，光照射により毒性が強まった（**Table 11**）。毒性の変化を検討した物質のうち1-ニトロピレンが最も光照射により毒性が強まり，暗条件下と比較して明条件下で毒性が1000倍以上強まった（**Table 11**）。これらのことから，1-ニトロピレンを始めとするいくつかのNPAHsは，シオダマリミジンコの遊泳を阻害する光毒性を有することが考えられる。

光照射条件下における1-ニトロピレンの分解産物の生成を検討した結果，光（波長290-700 nm，可視光および紫外光の光強度；それぞれ41および0.072 W/m^2）照射24時間後の1-ニトロピレンアセトン溶液から1-ヒドロキシピレンの生成が認められた（**Fig. 3 b**）。1-ヒドロキシピレンの光分解産物として1-ヒドロキシピレンおよびモノヒドロキシ1-ニトロピレン類が報告されている（Yu, 2002）。しかし，甲殻類急性遊泳阻害試験における光強度（波長290-700 nm，可視光および紫外光の光強度；それぞれ12および0.019 W/m^2）で24時間照射した1-ニトロピレンアセトン溶液からはこれらの光分解産物は検出されず，毒性試験における光強度で24時間照射しても，生成する光分解産物は微量であると考えられる。1-アミノピレンは光照射前の初期溶液からもピーク強度1.6 x 10^{6}で検出され（**Fig. 3 a**），光照射24時間後の溶液ではピーク強度が2.2 x 10^{6}となり，初期溶液より若干高まった（**Fig. 3 b**）ことから，1-アミノピレンは1-ニトロピレンから光だけでなく光照射以外でも生成する分解産物であると考えられる。

光条件下における1-ヒドロキシピレンおよび1-

アミノピレンの毒性は暗条件下よりも1から10倍強まった（Fig. 4）ものの，これらの分解産物の光照射による毒性変化は1-ニトロピレンよりも小さかった（Table 11）。光条件の組み合わせによる1-ニトロピレンの毒性影響試験では，曝露試験時に明条件であった試験区のみシオダマリミジンコノープリウス期幼生の遊泳が阻害された（Fig. 5）ことから，曝露前に光照射によって生成した分解産物は，極端に寿命の短い活性種を除き1-ニトロピレンの光照射による毒性変化に寄与しないことを示している。甲殻類毒性試験における光条件下で24時間光照射した1-ニトロピレン溶液から1-アミノピレンを除く分解産物は同定されなかった。以上の結果から，光分解産物は光照射による1-ニトロピレンの毒性変化にはほとんど寄与しないと考えられる。

ROS生成試験では，検討した全ての蛍光基質の相対蛍光度が光照射60分以降対照区と比べて有意に上昇し（Fig. 6 b, c, d），ROSの生成に伴いシオダマリミジンコの遊泳阻害率も有意に上昇した（Fig. 6 a）。AA添加試験では，AAの添加によりROSの生成およびシオダマリミジンコの遊泳阻害率の上昇が抑えられた（Fig. 7）。4-ニトロピレンや6-ニトロベンゾ[a]ピレンなど数種のNPAHsに，紫外光（UV）の一部UV-Aを照射すると，ROSやフリーラジカルが光強度依存的に生成した（Xia et al., 2013）。ベンゾ[a]ピレンやピレンにUV-Aおよび可視光を照射すると，光強度依存的に細胞毒性が誘導された（Botta et al., 2009）。以上のことから，光照射による1-ニトロピレンの毒性変化には主にROSの生成が寄与していると考えられ，また，ROSの生成から遊泳阻害が起こることを実験的に示した。一重項酸素を含むフリーラジカルは有機分子を含む溶液中で連鎖反応を引き起こし，様々な種類の活性酸素種や活性化分子を生成する（Voeikov, 2001）。ROS生成試験では，全ての蛍光基質の蛍光強度がほぼ同様の挙動を示した（Fig. 6, 4-5）ため，ROSまたはフリーラジカルの連鎖反応を反映している可能性が考えられた。これらの連鎖反応の結果，細胞内の過酸化脂質の増加など，試験生物内の酸化ストレスが上昇し，結果として遊泳阻害に至るメカニズムの存在が考えられる。

UV照射によるピレンの甲殻類に対する毒性誘導が報告されている（Newsted and Giesy, 1987；Pelletier et al., 1997；Swartz et al., 1997）が，本研究では光照射によるピレンのシオダマリミジンコに対する毒性誘導は観察されなかった（Fig. 4）。ピレンのmysid shrimp（*Mysidopsis bahia*）に対する毒性は蛍光灯下（UV-AおよびUV-Bの光強度：それぞれ9.70±0.66および3.37±0.22 μW/cm^2）よりもUV照射下（UV-AおよびUV-Bの光強度：それぞれ397±35.1および134±22.8 μW/cm^2）において約28倍高まった（Pelletier et al., 1997）。本研究における甲殻類毒性試験では，UV-AおよびUV-Bの光強度はそれぞれ0.019および＜0.001 μW/m^2（1.9 および＜0.1 μW/cm^2）であり，光によるピレンの毒性誘導の違いには照射した光強度の違いが反映されていると推測される。また，NPAHsは上記の光強度の光照射により毒性が強まった（Table 11）ことから，ピレンなどのPAHsよりも光強度が100倍程度弱い光の照射により毒性の誘導が起こる可能性が示唆される。

環境中に放出されたNPAHsは自然太陽光に曝されるため，光照射によりNPAHsの毒性が強まるか否かを見出すことは重要である。光により励起されたPAHは活性種として，主にROSやPAH由来のフリーラジカルを生じ，体内に吸収された後には過酸化脂質などを生成する（Fu et al., 2012；Lampi et al., 2005；Arfstena et al., 1996）。これらは様々な細胞組織に損傷を与え，急性毒性や遺伝毒性を誘導する（Fu et al., 2012；Lampi et al., 2005；Arfstena et al., 1996）。数種のNPAHsに，紫外光（UV）の一部UV-Aを照射すると，ROSやフリーラジカルが光強度依存的に生成する（Xia et al., 2013）。一重項酸素などのROSはアミノ酸，タンパク質，脂質，およびDNAと反応し，結果として細胞組織に損傷を与え病気を引き起こす（Tyrrell, 2000）。またROSはDNAやタンパク質に損傷を与え，老化，炎症，心血管疾患，悪性腫瘍，およびその他の年齢に関係した病気を引き起こす（Loft and Poulsan, 1996；Stadtman and Berlett, 1997）。多くの海産生物は海洋環境中において低濃度であるものの，光照射で毒性のあるROSを生じるNPAHsに曝露され，かつ同時に自然光にも曝されている。そのため，もしNPAHsの濃度レベルが高く，光照射時間が長くなれば，海産生物に有害な影響が引き起こされる可能性がある。

日本の河川中における1-ニトロナフタレン（MW：173.17）および1,5-ジニトロナフタレン（MW：218.17）の最高検出濃度はそれぞれ3.7および10 ng/L（21および46 pM）と報告されている（Murahashi et al., 2001）。河川中および海水中における1-ニトロピレンの最高検出濃度はそれぞれ淀川において1 ng/L（4 pM, Ohe and Nukaya, 1996）および日本海において0.5 pg/L（2 fmol/L, Murahashi et al., 2001）と報告されている。環境動態モデルを用いて，Yaffe et al.（2001）はカリフォルニア水中（環境モデルにおける水であり，海水や河川水などに区別されてい

ない）の1-ニトロピレン（MW：247.25），1-ニトロナフタレン，および2-ニトロフルオレン（MW：211.22）濃度をそれぞれ2.9，1.0，および2.2 ng/L（12，5.8，および10 pM）と推定した。また，Huang and Batterman（2014）はミシガン湖水中の1-ニトロピレン，1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，および6-ニトロクリセン（MW：273.29）濃度をそれぞれ0.17，11.7，8.7，および0.11 ng/L（0.69，68,41，および0.40 pM）と推定した。光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生の遊泳阻害は1-ニトロピレン0.01-10 μM濃度区，1-ニトロナフタレン10 μM濃度区，1,5-ジニトロナフタレン10 μM濃度区，および2-ニトロフルオレン1-10 μM濃度区，および1-ニトロクリセン1-10 μM濃度区で認められ（**Table 11**），これらの影響が認められたNPAHs濃度はこれらのNPAHsの報告された環境水中濃度より千倍以上高かった。以上のことから，現在のところ，1-ニトロピレン，1-ニトロナフタレン，1,5-ジニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，および6-ニトロクリセンの環境中濃度における，光による毒性変化を考慮した海産甲殻類に及ぼす影響は限定的と考えられる。しかし，光強度依存的に過酸化脂質が生成し（Xia et al., 2013），光強度が強くなると毒性誘導が増す可能性が考えられる。モクズガニの一種である *Neohelice granulata* を用いた試験では，UV-B照射によりROS，過酸化脂質，およびROSのスカベンジャーとして作用するカタラーゼの生成が誘導され（Vargas et al., 2011），光強度の強いUVを照射すると海産甲殻類に対して致死影響が認められる（Naganuma et al., 1997；Wübben., 2000）ことから，干潟など自然光の光強度が強い環境に生息する生物に対する影響について，より詳細に検討する必要があると考えられる。3-ニトロフルオランテン，6-ニトロクリセン，2,7-ジニトロフルオレン，1,3-ジニトロピレン，1,6-ジニトロピレン，および1,8-ジニトロピレンの環境水中濃度は報告されておらず，これらの物質の海産生物に及ぼす影響を評価することはできなかった。

4.4 まとめ

本章においては，NPAHsの沿岸海洋生態系への影響評価に資することを目的として，10種のNPAHsを被検物質とし，光条件の違いによりシオダマリミジンコに対する毒性が変化するか検討した。その結果，検討した10種類のNPAHsのうち9種類は，光照射により毒性が強まり，1-ニトロピレンを始めとするいくつかのNPAHsは，シオダマリミジンコの遊泳を阻害する光毒性を有することが考えられる。

光照射によって最も毒性の強まった1-ニトロピレンについて，光による毒性変化への寄与を光分解産物および光照射により発生するROSの両面から検討した結果，毒性変化には主にROSの生成が寄与していると考えられ，生成したROSは有機分子を含む溶液中で連鎖反応を引き起こして細胞内の過酸化脂質の増加など試験生物内の酸化ストレスが上昇し，結果として遊泳阻害に至るメカニズムの存在が考えられる。

本研究で光条件下においてシオダマリミジンコの遊泳阻害が認められた濃度と報告された環境水中濃度を比較して，光照射で毒性のあるROSを生じるNPAHsの影響を検討した結果，影響が認められた濃度は報告された環境水中濃度より千倍以上高く，光による毒性変化を考慮しても，これらのNPAHsは現在の環境水中濃度で海産甲殻類に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。しかし，光強度が強くなると毒性誘導が増す可能性が考えられ，また，光強度の強いUVを照射すると海産甲殻類に対して致死影響が認められることから，干潟など自然光の光強度が強い環境に生息する生物に対するNPAHsの影響について，より詳細に検討する必要があると考えられる。

第5章　総合考察

ニトロアレーン（NPAHs）は水域環境を含む全ての環境に広く分布し（Bamford and Baker, 2003），水生生物を含む幅広い生物に対して種々の毒性を有し（Wislocki et al., 1986；Busby et al., 1988；Tokiwa and Ohnishi, 1986；IPCS, 2003；Michelmore et al., 1998a, b; Bacolod et al., 2013a; Curtis and Ward, 1981）ており，化石燃料の使用の際に発生する副産物（Nielsen, 1984）として新たに環境影響が懸念される物質群の一つと考えられる。NPAHsは大気中へ排出された後，その一部は大気降下物，主に降雨によって水域環境に流入し（Ohe and Nukaya, 1996；Murahashi et al., 2001；Takahashi et al., 1995），最終的には沿岸海域に流入する（De Giorgio et al., 2010；Fernandez et al., 1992；Ozaki et al., 2010）ため，海洋生態系に及ぼす影響が懸念される。また，NPAHsと分子構造の近いピレン等の多環芳香族炭化水素（PAHs）は紫外線（UV）照射により，最高一万倍以上海産生物に対する毒性が強まる（Pelletier et al., 1997）ことが知られており，太陽光によりNPAHsの環境に及ぼす影響が増大する可能性が考えられる。そのため，生残，成長，再生産などに対する一般的毒

性に加えて，光条件を考慮したNPAHsの海産生物に対する毒性影響を明らかにし，既報の環境中濃度と比較することで，現時点におけるNPAHsの海洋生態系への初期リスク評価を行うことを目的とし，本研究を実施した。

水域生態系には様々な生物が生息しており，生息する全生物に対する影響を検討するのは難しいため，栄養段階の異なる生物，藻類，甲殻類，および魚類に対する急性および慢性毒性影響を検討し，評価することが推奨されている（OECD, 2002）。そこで，本研究の試験生物として栄養段階の異なる海産の藻類，甲殻類，および魚類の代表種を選定した。海産藻類からはOECDテストガイドラインや水産庁が生態毒性試験生物として推奨しているスケレトネマを選定した。海産甲殻類からは生態毒性のモデル生物としての適性を備え，また，光照射による毒性変化を見る種として適しているシオダマリミジンコを選定した。海産魚類からは生態毒性のモデル生物としての適性を備え，我々の研究室で毒性データが豊富なアメリカ東海岸原産の海産のメダカの一種，マミチョグと，日本において広く種苗生産がなされ，また，水産業においても重要な海水魚種であるマコガレイを選定した。被検物質としては，人の健康や環境へ与える影響について検討されているNPAHsのうち，2-4環の芳香環を持つ多環芳香族炭化水素（PAHs）のモノニトロ体およびジニトロ体である10種を選定した（Table 1）。

まず，これらの4種の試験生物を用いて，選定した10種のNPAHsの急性毒性を調べた。その結果，10種のNPAHsのうち，藻類スケレトネマに対しては1-ニトロピレンが，甲殻類シオダマリミジンコに対してはジニトロピレン類が，魚類マミチョグに対しては3-ニトロフルオランテンおよび1-ニトロピレンが，マコガレイに対しては1-ニトロナフタレンがそれぞれ強い毒性を示した（Table 5）。そのため，試験生物の種類によって強い毒性を示す物質が異なることが明らかとなり，化学物質の生態系影響評価において，栄養段階が異なる複数の生物種を用いた毒性影響試験の重要性が改めて確認された。また，本研究で得られたNPAHsの急性毒性値とNPAHsと対応するPAHsの急性毒性値を比較した結果，ニトロ基の導入による毒性の変化は試験生物によって異なっており，ニトロ基の有無による単純な毒性の推定は困難であることが明らかとなった。しかし，本研究の対象物質であるNPAHsは変異原性や発ガン性などが疑われている（Wislocki et al., 1986；Busby et al., 1988；Tokiwa and Ohnishi, 1986；IPCS, 2003）が，これらの毒性を含めNPAHsの毒性は，長期暴露試験によって明らかになると考えられる。魚類を用いた慢性毒性試験では対照区の成長や生残などの指標を一定水準以上に維持させるため，流水式で曝露する必要がある。しかし，その強い変異原性や発ガン性のため，試験者に対する影響が懸念され，流水式による長期暴露試験の実施には大きな困難と危険性が伴う。そこで本研究では代替法としてコレステロールペレット移植試験を実施した。

急性毒性試験で両試験魚に対して唯一毒性影響が認められた1-ニトロナフタレンおよび，藻類，甲殻類および魚類の急性毒性試験で最も毒性の強かった1-ニトロピレンを被験物質とし，被検物質を含んだコレステロールペレットを抱卵中のマミチョグメスの筋肉中に打ち込み，被検物質の受精卵への移行試験を実施した。その結果，移植区卵中1-ニトロナフタレンあるいは1-ニトロピレン濃度は，対照区よりも4週間の全実験期間中において高く維持されており（Table 7），抱卵魚中の卵に化学物質を移行させる手法として，コレステロールペレット移植法の有効性が確認された。そのため，本手法を用いることにより，メス卵巣に移行した化学物質の胚に及ぼす影響を，より簡便に検討できることが明らかとなった。また，産卵前のマミチョグメスに被検物質を含んだコレステロールペレットを移植し，被検物質の卵への移行を評価するとともに，結果として生じる受精卵への毒性影響を検討した。その結果，ふ化率は今回検討した被検物質に共通して最も感受性の高い指標（Table 8, 9）であり，この指標から卵中実測濃度を基にした毒性値を明らかにした。これらの毒性値をNPAHs移行試験における対照区の卵巣および魚体中濃度比と報告された生物濃縮係数（BCF）を用いて，水中濃度を基にした毒性値に変換した結果，1-ニトロナフタレンの最低影響濃度（LOEC）が1.9 μg/L，1-ニトロピレンのLOECおよび最大無影響濃度（NOEC）がそれぞれ3.2および8.8 μg/Lと推測された（Table 10）。これらの値はマミチョグに対する1-ニトロナフタレンおよび1-ニトロピレンの急性毒性値，それぞれ560-1,100 μg/Lおよび45-290 μg/Lよりも5.1-580倍小さく，化学物質の生態系影響評価における慢性毒性試験の重要性が改めて確認された。溶解助剤を用いない急性毒性試験では，試験期間中の1-ニトロピレンの海水中濃度を0.21 μg/Lより高濃度に維持できなかった（Table 5）ことから，海水からの生物濃縮のみでは魚類再生産への影響は考えにくく，また，biomagnification factor（BMF）は0.008（Bacolod et al., 2013b）であり，餌からの生物濃縮も小さいと推測されることから，1-ニトロピレンが魚類再生産に及ぼす可能性は

極めて小さいと推測された。しかし，本研究の被検物質であるNPAHsは環境中の物理的および化学的な作用に曝されており，NPAHsと分子構造の近いピレン等のPAHsは紫外線照射により，海産生物に対する毒性が強まる（Newsted and Giesy, 1987；Pelletier et al., 1997；Swartz et al., 1997；Huang et al., 1997）ことから，NPAHsについても同様の影響が考えられた。そのため，光条件を考慮したNPAHsの海産生物に対する毒性影響について検討した。

本研究で急性毒性試験に用いたシオダマリミジンコは光を透過し，光照射による毒性変化を反映しやすいと考えられることから，NPAHsのシオダマリミジンコの遊泳運動に対する毒性の光照射による変化について検討した。その結果，検討した10種類のNPAHsのうち９種類は，光照射により毒性が強まった。毒性の変化を検討した物質のうち，１-ニトロピレンが最も光照射により毒性が強まり，暗条件下と比較して明条件下で毒性が1,000倍以上強まったことから，１-ニトロピレンなどの数種のNPAHsは，シオダマリミジンコの遊泳を阻害する光毒性を有することが明らかとなった。また，光照射による１-ニトロピレンの毒性の変化の原因について活性酸素種（ROS）および光分解物の発生の両面から検討した結果，ROSの生成からシオダマリミジンコの遊泳阻害が起こることを実験的に確認し，毒性変化には主にROSの生成が寄与していることが明らかとなった。光照射によるPAHsの毒性誘導を例に毒性変化のメカニズムを見てみると，光により励起されたPAHは活性種として，主にROSやPAH由来のフリーラジカルを生じ，体内に吸収された後には過酸化脂質などを生成する（Fu et al., 2012；Lampi et al., 2005；Arfstena et al., 1996）。これらは様々な細胞組織に損傷を与え，急性毒性や遺伝毒性を誘導する（Fu et al., 2012；Lampi et al., 2005；Arfstena et al., 1996）。以上のことから，本研究で確認された光照射によるNPAHsの毒性誘導機構を推測すると，１-ニトロピレンなどNPAHsを含む海水に光を照射するとROSが生成して溶液中で連鎖反応を引き起こし，細胞内の過酸化脂質の増加など試験生物内の酸化ストレスが上昇する結果，遊泳阻害に至ると考えられる。光強度の強いUVを照射すると海産甲殻類に対して致死影響が認められ（Naganuma et al., 1997；Wübben, 2000），モクズガニの一種である *Neohelice granulata* を用いた試験では，UV-B照射によりROS，過酸化脂質，およびROSのスカベンジャーとして作用するカタラーゼの生成が誘導された（Vargas et al., 2011）ことから，光強度の強いUV照射のみでも，今回推測した光照射による毒性誘導メカニズムと同様の作用により，甲殻類に対して遊泳阻害や致死などの影響を及ぼすと推測される。また，光強度依存的に過酸化脂質が生成する（Xia et al., 2013）ため，光強度が強くなると毒性誘導が増す可能性が考えられることから，干潟など自然光の光強度が強い環境に生息する生物に対する影響について，より詳細に検討する必要があると考えられる。

NPAHs の海産生物に対する急性毒性値から推定した予測無影響濃度（PNEC, **Table 5**），コレステロールペレット移植試験の結果から推測したNPAHsの海水実測濃度を基にした慢性毒性値（**Table 10**），および海産甲殻類の光照射による毒性誘導を考慮した毒性影響濃度（**Table 11**），と既報の水中実測濃度およびモデリングによる水中推定濃度を比較し，実環境における海産生物に及ぼすリスクを検討した。コレステロールペレット移植法を用いて推定した水中濃度を基にした慢性毒性値については，通常のリスク評価で用いられる毒性値と大幅に異なるためこれを参考値とし，PNEC算出には用いなかった。

１-ニトロナフタレン（MW：173.17）の最小急性毒性値（マミチョグに対する急性毒性値560 μg/L）から得られたPNEC（5,600 ng/L, **Table 5**），コレステロールペレット移植法を用いて推定した水中濃度を基にした慢性毒性値LOEC（1.9 μg/L, **Table 10**），および光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生試験において遊泳阻害が認められた濃度（10 μM, 1,700 μg/L, **Table 11**）と比較して，環境水中における最高検出濃度（日本河川水中濃度3.7 ng/L, Murahashi et al., 2001）や環境動態モデルを用いて推定されたカリフォルニア地域の水中濃度（1.0 ng/L, Yaffe et al., 2001）およびミシガン湖水中濃度（11.7 ng/L, Huang and Batterman, 2014）は100倍以上低い濃度であった。コレステロールペレット移植法の試験結果から推定した毒性値はLOECしか得られていないが，１-ニトロナフタレンのNOECが上記水中LOEC推定値1.9 μg/Lの１/100であることは考えにくく，むしろ1.9 μg/Lに近い値であることが考えられる。また，卵内濃度から水中濃度LOECを推定していることから，不確実性の高い可能性がある。これを考慮して上記で推定したLOECを安全係数10あるいは100で除したとしても，依然として環境水中最高検出濃度や推定濃度の方が低い値である。これらのことから，光による毒性変化や慢性毒性値の不確実性を考慮しても，海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと想定される。

２-ニトロフルオレン（MW：211.22）の最小急性毒性値（マミチョグに対する急性毒性値＞4.6 μg/L）

から得られたPNEC（>46 ng/L, Table 5），および光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生試験において遊泳阻害が認められた濃度（1-10 μM, 210-2,100 μg/L, Table 11）と比較して，環境動態モデルを用いて推定されたカリフォルニア地域の水中濃度（2.2 ng/L, Yaffe et al., 2001）およびミシガン湖水中濃度（8.7 ng/L, Huang and Batterman, 2014）は少なくとも5倍以上低い濃度であった。1,5-ジニトロナフタレンの（MW：218.17）の最小急性毒性値（マミチョグに対する急性毒性値>38 μg/L）から得られたPNEC（>380 ng/L, Table 5），および光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生試験において遊泳阻害が認められた濃度（10 μM, 2,200 μg/L, Table 11）と比較して，日本河川中の検出濃度（10 ng/L，高橋ら，1995）は少なくとも30倍以上低い濃度であった。6-ニトロクリセン（MW：273.29）の最小急性毒性値（マミチョグに対する急性毒性値>0.033 μg/L）から得られたPNEC（>0.33 ng/L, Table 5），および光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生試験において遊泳阻害が認められた濃度（1-10 μM, 270-2,700 μg/L, Table 11）と比較して，環境動態モデルを用いて推定されたミシガン湖水中濃度（0.11 ng/L, Huang and Batterman, 2014）は少なくとも3倍以上低い濃度であった。これらの3種のNPAHsは何れの急性毒性試験においても，試験濃度の範囲で50%以上の藻類生長阻害，甲殻類遊泳阻害あるいは魚類死亡が認められず，急性毒性値を試験最高濃度以上として算出しているため，PNECを低く推定していると考えられる。しかし，実測および推定された環境水中濃度はこれらのPNECを下回っており，光による毒性変化を考慮しても，これらのNPAHsは現在の環境水中濃度で海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと想定される。

1-ニトロピレン（MW：247.26）のコレステロールペレット移植法の結果から推定した水中濃度を基にした慢性毒性値NOECおよびLOEC（3.2 および 8.8 μg/L, Table 10）および光条件下におけるシオダマリミジンコノープリウス期幼生試験において遊泳阻害が認められた濃度（0.01 -10 μM, 2.5-2,500 μg/L, Table 11）と比較して，環境水中における最高検出濃度（日本河川水中濃度1.0 ng/L, Ohe and Nukaya, 1996）や環境動態モデルを用いて推定されたカリフォルニア地域の水中濃度（2.9 ng/L, Yaffe et al., 2001）およびミシガン湖水中濃度（0.17 ng/L, Huang and Batterman, 2014）は100倍程度低い濃度であった。コレステロールペレット移植法の試験結果から推定した慢性毒性値は卵内濃度から水中濃度の慢性毒性値を推定していることから，不確実性の高い可能性がある。これを考慮して上記で推定したNOECあるいはLOECを安全係数10あるいは100で除したとしても，依然として環境水中最高検出濃度や推定濃度の方が下回っている。これらのことから，光による毒性変化や慢性毒性値の不確実性を考慮しても，海産魚類の再生産や甲殻類に影響を及ぼす可能性は低いと想定される。しかし，1-ニトロピレンの最小急性毒性値（スケレトネマに対する急性毒性値0.42 μg/L）を安全係数100で除したPNEC（4.2 ng/L, Table 5）は上記の水中最高検出濃度や水中推定濃度より高いもののほぼ同等の濃度であるため，1-ニトロピレンは海産生物，特に海産藻類に影響を及ぼす可能性が想定され，この物質の海洋環境に関するリスクについてさらに研究を進めていく必要がある。また，その他の5物質については環境水中濃度が報告されておらず，これらのNPAHsの海産甲殻類に及ぼす影響を評価することはできなかった。

本研究の成果は，以下のようにまとめることができる。

1. NPAHsの海産生物に対する急性毒性は生物の種類により強い毒性を示す物質が異なる。
2. NPAHsの急性毒性値とNPAHsと対応するPAHsの急性毒性値を比較した結果，ニトロ基の導入による毒性の変化は試験生物によって異なり，一定の傾向は認められない。
3. NPAHsなど長期暴露試験の実施に危険性が伴う物質の魚類に対する慢性影響評価には，コレステロールペレット移植法を用いて，メス卵巣に移行した化学物質の胚に及ぼす影響を見る方法が有効である。
4. NPAHsが移行した魚類受精卵への毒性影響を検討した結果，ふ化率が最も感受性の高い指標である。
5. 魚類に対する急性毒性値と慢性毒性値を比較した結果，慢性毒性値が急性毒性値よりも5-500倍程度小さい。
6. 1-ニトロピレンなど数種のNPAHsは，甲殻類の遊泳を阻害する光毒性を有する。
7. 光照射による1-ニトロピレンの毒性変化は主に活性酸素種（ROS）の生成が寄与している。
8. 1-ニトロピレンなどNPAHsを含む海水に光を照射するとROSが生成し，細胞内の過酸化脂質の増加など試験生物内の酸化ストレスが上昇する結果，甲殻類の遊泳阻害に至る毒性誘導メカニズムが想定される。
9. 1-ニトロナフタレン，2-ニトロフルオレン，

1,5-ジニトロナフタレン，および6-ニトロクリセンについては，光による毒性変化や慢性毒性値の不確実性を考慮しても，現在の海水中濃度で海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと想定される。

10. 1-ニトロピレンについては光による毒性変化や慢性毒性値の不確実性を考慮しても，現在の海水中濃度で海産魚類の再生産や甲殻類に影響を及ぼす可能性は低いと想定されるが，海産生物，主に藻類に影響を及ぼす可能性がある。

人類は様々な種類の化学物質を使用することにより繁栄を続けているが，使用済み化学物質やその分解物は環境に移行し，様々な形で環境生態系に影響を及ぼしている。本研究では，人類が莫大に使用する化石燃料の使用時に発生する副産物に着目し，その中でも新たに環境影響が懸念される物質群の一つと考えられるNPAHsの海洋生態系への初期リスク評価を行い，今回検討した物質の中では1-ニトロピレンが海洋環境に及ぼすリスクが高いことを明らかにした。しかし，化石燃料の使用時に発生する副産物の海洋生態系への影響についてはナフタレンやピレンなど代表的なPAHsについてはかなり研究が進んでいるものの，本研究で研究対象としたNPAHsや水酸化PAHs,アルキルPAHsなど芳香環に様々な官能基がついた物質群については，環境モニタリングおよび生物影響に関する情報が共に少なく，リスク評価が進まないままである。本研究において検討した10種のNPAHsのうち５種については環境水中濃度が報告されておらず，これらのNPAHsの海洋環境に及ぼすリスクを評価できなかった。今後，海洋環境に及ぼすリスクを評価するため，NPAHsを含む芳香環に様々な官能基がついた物質群の環境モニタリングを行うとともに，その他のPAHs関連物質についても海産生物に及ぼす影響を検討し，リスクが高い物質を早急に明らかにしていく必要がある。本研究では栄養段階の異なる４種の生物を用いてNPAHsの急性毒性を検討したが，生物の種類により強い毒性を示す物質が異なることが示された。PAHs関連物質についてはNPAHsと同様に生物の種類により強い毒性を示す物質が異なる可能性があることから，これから生態毒性情報を集める際には栄養段階の異なる複数の生物に対する毒性影響を検討する必要がある。また，PAHs関連物質の中にはNPAHsと同様に変異原性や発がん性を示す物質も含まれる。こうした物質についても本研究で確立したコレステロールペレット移植法を用いることにより，長期暴露試験の実施に伴う危険性を回避しつつ，魚類に対する慢性影響評価を比較的簡便に行うことが可能である。本研究では1-ニトロピレンなど数種のNPAHsは甲殻類の遊泳を阻害する光毒性を有し，光照射による1-ニトロピレンの毒性変化は主に活性酸素種（ROS）の生成が寄与することを明らかにした。この光照射による毒性誘導メカニズムは光強度の強い光照射による甲殻類の遊泳阻害や致死などの影響とほぼ同じメカニズムと想定される。また，生体内の酸化ストレスの指標である過酸化脂質は光強度依存的に生成するため，光強度が強くなると毒性誘導が増す可能性が考えられる。干潟など自然光の光強度が強い環境に生息する生物に対するNPAHsの影響について，より詳細に検討する必要があるといえる。本研究で得られた研究成果はこれまでほとんど研究例のないNPAHsの海洋生態系に対する環境影響評価に繋がるものであり，主に沿岸域の海洋環境の保全に有益な情報となることが期待される。

謝辞

本研究をまとめるにあたって適切なるご助言と懇切なご指導を賜りました鹿児島大学水産学部小山次朗名誉教授に心より感謝の意を表します。また，博士課程で貴重なご助言をいただいた，鹿児島大学水産学部前田広人教授，宇野誠一准教授，吉川　毅准教授，佐賀大学農学部　上野大介准教授にも感謝致します。

本研究は，著者が瀬戸内海区水産研究所において，海産藻類を用いた毒性試験法の確立に携わる過程から開始し，試験生物として甲殻類および魚類を増やしながら実施しました。共同研究者として毒性試験の実施において多大なご協力をいただき，また，研究を遂行する上で多くの貴重なご助言を賜った藤井一則博士（現東北区水産研究所業務推進部長）に深甚なる謝意を表します。

海産藻類の毒性試験法について懇切丁寧にご指導いただき，また研究を遂行する上で多くの貴重なご助言を賜った東北区水産研究所の奥村裕博士に厚くお礼申し上げます。また，被検物質の測定法などについて多くの貴重なご助言および示唆に富むご教授をいただきました中央水産研究所業務推進課長市橋秀樹博士には謹んで御礼申し上げます。

研究の遂行に際して終始懇篤なるご指導並びに絶大なるご支援を賜った元瀬戸内海区水産研究所化学環境部長有馬郷司博士，元中央水産研究所山田　久博士，元水産総合研究センター研究推進部研究主幹岸田　達博士には謹んでお礼申し上げます。また，研究の取りまとめに際し絶大なるご支援を賜った元水産総合研究センター研究推進部長高柳和史博士，元水産工学研究

所業務推進部長寺脇利信博士ならびに瀬戸内海区水産研究所環境保全研究センター桑原隆治博士には謹んでお礼申し上げます。

研究に際して海産生物を用いた毒性試験の実施，被検物質の測定法，および試験結果の解析において多大なご指導やご協力をいただき，また，研究を遂行する上で多くの貴重なご助言を賜った水産研究・教育機構経営企画部広報コーディネーター角埜彰博士，瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター小島大輔博士，瀬戸内海区水産研究所環境保全研究センター持田和彦博士，伊藤克敏博士には厚くお礼申し上げます。

研究の遂行において多くのご教示や示唆に富んだ討議をいただいた田中博之博士，河野久美子氏をはじめ瀬戸内海区水産研究所環境保全研究センター化学物質グループの職員の方々には厚く感謝の意を表します。最後に，瀬戸内海区水産研究所環境保全研究センター化学物質グループの平本千秋氏，高場由美子氏および正田美紀氏に心から御礼申し上げます。

文献

Albinet A., Leoz-Garziandia E., Budzinski H., and Viilenave E., 2006: Simultaneous analysis of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons on standard reference material 1649a (urban dust) and on natural ambient air samples by gas chromatography-mass spectrometry with negative ion chemical ionisation. *J. Chromatogr.*, **1121**, 106–113.

American Society of Testing Materials (ASTM), 1994: Standard guide for conducting static 96-h toxicity tests with microalgae. Annual book of ASTM Standards. ASTM E1218–90. Philadelphia, PA.

American Society for Testing and Materials (ASTM), 2003: Reference Solar Spectral Irradiance: Air Mass 1.5 ; ASTM G173–03 Reference Spectra ASTM 2003, URL: http://rredc.nrel.gov/solar/spectra/am1.5/.

APHA/AWWA/WPCF (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation), 1998: 8111 Biostimulation (algal productivity), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (20th edition). American Public Health Association, Washington. USA.

Arfstena D. P., Schaeffer D. J., and Mulveny D. C., 1996: The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **33**. 1–24.

Armstrong P. B., and Child J. S., 1965: Stages in the normal development of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, **128**, 143–168.

Atkinson R., and Arey J., 1994: Atmospheric chemistry of gas-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: formation of atmospheric mutagens. *Environ. Health Perspect.*, **102**, 117–126.

Bacolod E. T., Uno S., Tanaka H., Miki S., Kokushi E., Fukunaga M., and Koyama J., 2013a: Bioconcentration of waterborne nitroarenes in marbled flounder *Pleuronectes yokohamae*. *Jpn. J. Environ. Toxicol.*, **16**, 91–105.

Bacolod E. T., Uno S., Tanaka H., and Koyama J., 2013b: Micronuclei and other nuclear abnormalities induction in erythrocytes of marbled flounder *Pleuronectes yokohamae*, exposed to dietary nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. *Jpn. J. Environ. Toxicol.*, **16**, 79–89.

Bamford H. A., and Baker J. E., 2003: Nitro-polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations and sources in urban and sub-urban atmospheres of Mid-Atlantic region. *Atmos. Environ.*, **37**, 2077–2091.

Botta C., Di Giorgio C., Sabatier A. S., and De Méo M., 2009: Effects of UVA and visible light on the photogenotoxicity of benzo [a] pyrene and pyrene. *Environ. Toxicol.*, **24**, 492–505.

BP public limited company (p.l.c.), 2014: BP Statistical Review of World Energy, BP p.l.c. London, UK, URL: http://www.bp.com/en/global/corporate/ about-bp/ energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html.

Burnett K. G., Bain L. J., Baldwin W. S., Callard G. V., Cohen S., Di Giulio R. T., Evans D. H., Gomez-Chiarri M., Hahn M. E., Hoover C. A., Karchner S. I., Katoh F., MacLatchy D. L., Marshall W. S., Meyer J. N., Nacci D. E., Oleksiak M. J., Rees B. B., Singer T. P., Stegeman J. J., Towle D. W., Van Veld P. A., Vogelbein W. K., Whitehead A., Winn R. N., and Crawford D. L., 2007: *Fundulus* as the

premier teleost model in environmental biology: Opportunities for new insights using genomics, *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics*, **2**, 257-286.

Busby W. F. Jr., Stevens E. K., Kellenbach E. R., Cornelisse J., and Lugtenburg J., 1988: Dose-response relationships of the tumorigenicity of cyclopenta [c,d] pyrene, benzo [a] pyrene and 6-nitrochrysene in a newborn mouse lung adenoma bioassay. *Carcinogenesis*, **9**, 741-746.

Crim L. W., Sherwood N. M., and Wilson C. E., 1988: Sustained hormone release. II. Effectiveness of LHRH analog (LHRHa) administration by either single time injection or cholesterol pellet implantation on plasma gonadotropin levels in a bioassay model fish, the juvenile rainbow trout. *Aquaculture*, **74**, 87-95.

Curtis M. W., and Ward C. H., 1981: Aquatic toxicity of forty industrial chemicals: Testing in support of hazardous substance spill prevention regulation. *J. Hydrology.*, **51**, 359-367.

独立行政法人水産総合研究センター, 2014：平成24年度　栽培漁業・海面養殖用種苗の生産, 入手・放流実績（全国）～総括・動向編～, 独立行政法人水産総合研究センター, 109pp.

Dawson G. W., Jennings A. L., Drozdowski D., and Rider E., 1975-76: The acute toxicity of 47 industrial chemicals to fresh and saltwater fishes. *J. Hazard. Mater.*, **1**, 303-318.

De Giorgio C., Liu W., Sarrazin L., Wafo E., Moreau X., De Jong L., Thiery A., and De Meo M., 2010: Organic pollution and genotoxicity of sediments of the Palun marshes (Berre Lagoon, France). *J. Environ. Quality.*, **39**, 558-567.

Fent K., 1996: Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.*, **26**, 1-117.

Fernandez P., Grifoll M., Solanas A. M., Bayona J. M., and Albaiges J., 1992: Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in coastal sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 817-829.

Fu P. P., Xia Q., Xin S., and Yu H., 2012: Phototoxicity and environmental transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) — light-induced reactive oxygen species, lipid peroxidation, and DNA damage. *J. Environ. Sci. Health. C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*, **30**, 1-41.

Guillard R. R., and Ryther J. H., 1962: Studies of marine diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, **8**, 229-239.

堀 秀夫, 立石晶浩, 山田 久, 2001：海産動物プランクトンによる有害物質急性毒性試験法の開発, 環境毒性学会誌, **4**, 73-86.

堀　秀夫, 2010：Ⅰ-2シオダマリミジンコ幼生の遊泳阻害試験法.「海産生物毒性試験指針」, 水産庁, pp. 16-24.

Hamilton M., Russo R., and Thurston R., 1977: Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, **11**, 714-719.

Hasei T., Watanabe T., and Hirayama T., 2006: Determination of 3,6-dinitrobenzo [e] pyrene in surface soil and airborne particles by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, **1135**, 65-70.

Hashimoto S., Bessho H., Hara A., Nakamura M., Iguchi T., and Fujita K., 2000: Elevated serum vitellogenin levels and gonadal abnormalities in wild male flounder (*Pleuronectes yokohamae*) from Tokyo Bay, Japan, *Mar. Environ. Res.*, **49**, 37-53.

Hayakawa K., Murahashi T., Butoh M., and Miyazaki M., 1995: Determination of 1,3-, 1,6- and 1,8-dinitropyrenes and 1-nitropyrene in urban air by high-performance liquid chromatography using chemiluminescence detection. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 928-932.

Huang L., 2014: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitro-PAHs and petroleum biomarkers in lake Michigan, the degree of Doctor of Philosophy in the University of Michigan, pp. 222.

Huang L., and Batterman S. A., 2014: Multimedia model for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and nitro-PAHs in Lake Michigan. *Environ. Sci. Technol.*, **48**, 13817-13825.

Huang X. D., Krylov S. N., Ren L., Mcconkey B. J., Dixon D. G., and Greenberg B. M., 1997: Mechanistic quantitative structure-activity relationship model for the photoinduced toxicity

of polycyclic aromatic hydrocarbons: II. An empirical model for the toxicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons to the duckweed *Lemna gibba* L. G-3. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2296-2303.

Hutchinson T. H., Williams T. D., and Eagles G. J., 1994: Toxicity of cadmium, hexavalent chromium, and copper to marine fish larvae (*Cyprinodon variegatus*) and copepods (*Tisbe battagliai*). *Mar. Environ. Res.*, **38**, 275-290.

Ibuki Y., and Goto R., 2002: Phototoxicity of benzo [a] pyrene by ultraviolet A irradiation: induction of apoptosis in Jurkat cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **11**, 101-109.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2001: Technological and economic potential of greenhouse gas emissions reduction, in "Third Assessment Report: Climate Change 2001 Mitigation", Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva, Switzerland, URL: http://www.ipcc.ch/ipccreports/tar/wg3/ index.php?idp=89.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2007a: Climate Change 2007: Synthesis Report. Contribution of working groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the IPCS (eds. Core Writing Team, Pachauri, R.K. and Reisinger, A.). IPCC, Geneva, Switzerland, 104 pp, URL: http://www.ipcc.ch/ publications_and_data/ar4/syr/en/contents.html.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2007b: Climate Change 2007: Contribution of working group I to the Fourth Assessment Report of the IPCS (eds. Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K.B., Tignor M., Miller H.L.) Cambridge University Press, NY, USA, 130-234, International Agency for Research on Cancer (IARC), URL: http://monographs.iarc.fr/ENG/ Classification/ index.php.

International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2003: Selected nitro- and nitro-oxy-polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental health criteria 229, Geneva, Switzerland.

角埜　彰，2010：Ⅱ-2魚類マミチョグの初期生活段階毒性試験法.「海産生物毒性試験指針」，水産庁，pp. 60-76.

角埜　彰，持田和彦，藤井一則，隠塚俊満，河野久美子，市橋秀樹，田中博之，2006：多環芳香族化合物及び油処理剤の海産生物の初期発生に対する影響評価，平成17年度「流出油及び油処理剤の海産生物に対する有害性評価に関する研究」報告書，pp. 5-43.

環境庁環境保健部環境安全課，2000：多環芳香族炭化水素（PAHs）の分析法，平成10年度化学物質分析法開発調査報告書（その2），70pp.

Kawanaka Y., Sakamoto K., Wang N., and Yun S. J., 2007: Simple and sensitive method for determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust particles by gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **1163**, 312-317.

Kojima H., Hirotani M., Nakatsubo N., Kikuchi K., Urano Y., Higuchi T., Hirata Y., and Nagano T., 2001: Bioimaging of nitric oxide with fluorescent indicators based on the rhodamine chromophore. *Anal. Chem.*, **73**, 1967-1973.

Kuo C. T., Chen H. W., and Lin S. T., 2003: Trace determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons using liquid chromatography with on-line electrochemical reduction and fluorescent detection. *Analytica. Chimica. Acta*, **482**, 219-228.

Lampi M. A., Gurska J., McDonald K. I., Xie F., Huang X. D., Dixon D. G., and Greenberg B. M., 2005: Photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to Daphnia magna: utraviolet-mediated effects and the toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon photoproducts. *Environ. Toxicol. Chem.*, **25**, 1079-1087.

Larssen T., and Carmichael G. R., 2000: Acid rain and acidification in China: the importance of base cation deposition, *Environ. Pollut.*, **110**, 89-102.

Lee K. W., Raisuddin S., Hwang D. S., Park H. G., Dahms H. U., Ahn I. Y., and Lee J. S., 2008: Two-generation toxicity study on the copepod model species *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, **72**, 1359-1365.

Leung K. M. Y., Morritt D., Wheeler J. R., Whitehouse P., Sorokin N., Toy R., Holt M., and Crane M., 2001: Can saltwater toxicity be predicted from freshwater data. *Mar. Poll. Bull.*, **42**, 1007-1013.

Levitan W. M., and Taylor M. H., 1979: Physiology

of salinity-dependent naphthalene toxicity in *Fundulus heteroclitus*. *J. Fish. Res. Board. Can.*, **36**, 615-620.

Likens G. E., and Bormann F. H., 1974: Acid rain: a serious regional environmental problem, *Science*, **184**, 1176-1179.

Likens G. E., Driscoll C. T., and Buso D. C., 1996: Long-term effects of acid rain: response and recovery of a forest ecosystem, *Science*, **272**, 244-246.

Loft S., and Poulsan H. E., 1996: Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J. Mol. Med.*, **74**, 297-312.

Machida R. J., Miya M. U., Nishida M., and Nishida S. 2002: Complete mitochondrial DNA sequence of *Tigriopus japonicus* (Crustacea: Copepoda) *Mar. Biotechnol.*, **4**, 406-417.

Machlin L. J., and Bendich A., 1987: Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.*, **1**, 441-445.

Marcial H. S., Hagiwara A., and Snell T. W., 2003: Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **22**, 3025-30.

Mitchelmore C. L., and Chipman J. K., 1998: Detection of DNA strand breaks in brown trout (*Salmo trutta*) hepatocytes and blood cells using the single cell gel electrophoresis (comet) assay. *Aquat. Toxicol.*, **41**, 161-182.

Mitchelmore C. L., Birmelin C., Livingstone D. R., and Chipman J. K., 1998: Detection of DNA strand breaks in isolated mussel (*Mytilus edulis* L.) digestive gland cells using the "comet" assay. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **41**, 51-58.

Morris D. P., Zagarese H., Williamson C. E., Balseiro E. G., Hargreaves B. R., Modenutti B., Moeller R., and Queimalinos C., 1995: The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1381-1391.

Murahashi T., Ito M., Kizu R., and Hayakawa K., 2001: Determination of nitroarenes in precipitation collected in Kanazawa, Japan. *Water Res.*, **35**, 3367-3372.

農林水産省, 農薬取締法, URL：http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S23/S23HO082.html.

Naganuma T., Inoue T., and Uye S., 1997. Photoreactivation of UV-induced damage to embryos of a planktonic copepod. *J. Plankton Res.*, **19**, 783-787.

Newsted J. L., and Giesy J. P., 1987: Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*, Strauss (Cladocera, Crustacea). *Environ. Toxicol. Chem.*, **6**, 445-46.

Nielsen T., 1984: Reactivity of polycyclic aromatic hydrocarbons towards nitrating species. *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 157-163.

奥村　裕, 隠塚俊満, 2010：Ⅰ-1 植物プランクトン生長阻害試験法.「海産生物毒性試験指針」, 水産庁, pp. 1-15.

Ohe T., and Nukaya H., 1996: Genotoxic activity of 1-nitropyrene in water from the Yodo River, Japan. *Sci. Total. Environ.*, **181**, 7-12.

Onduka T., Mochida K., Harino H., Ito K., Kakuno A., and Fujii K., 2010: Toxicity of metal pyrithione photodegradation products to marine organisms with indirect evidence for their presence in seawater. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 991-997.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 1992: Fish, acute toxicity test. Guideline 203. Paris, France.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 1998: *Daphnia magna* Reproduction Test. Guideline 211. Paris, France.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 2000. Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. Series on Testing and Assessment No. 23. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2001: Guidance document on the use of the harmonized system for the classification of chemicals which are hazardous for the aquatic environment. Series on Testing and Assessment No. 27. Paris, France.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 2002: 4.2 Guidance for the initial assessment of aquatic effects. Manual for Investigation of HPV Chemicals. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and

Development (OECD). 2004: *Daphnia* sp., acute immobilisation test. Guideline 202. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2006a: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. Guideline 201. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2006b: *Lemna* sp. growth inhabition test. Guideline 221. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2008: *Daphnia magna* reproduction test. Guideline 211. Paris, France.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2013: Fish, early-life stage toxicity test. Guideline 210. Paris, France.

Ozaki N., Takemoto N., and Kindaichi T., 2010: Nitro-PAHs and PAHs in atmospheric particulate matters and sea sediments in Hiroshima Bay Area, Japan. *Water Air Soil Pollut.*, **207**, 263-271.

Pelletier M. C., Burgess R. M., Ho K. T., Kuhn A., McKinney R. A., and Ryba S. A., 1997: Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2190-2199.

Pinkney A. E., Wright D. A., and Hughes G. M., 1989: A morphometric study of the effects of tributyltin compounds on the gills of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *J. Fish Biology*, **34**, 665-677.

Raisuddin S., Kwok K. W. H., Leung K. M. Y.,Schlenk D., and Lee J. S., 2007: The copepod *Tigriopus*: A promising marine model organisms for ecotoxicology and environmental genomics. *Aquat Toxicol.*, **83**, 161-173.

Rand G. M., Well P. G., and McCarty L. S., 1995: Chapter 1 - Introduction to aquatic toxicology. in "Fundamentals of Aquatic Toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment" (ed. by Rand G. M.), Taylor & Francis, Washington, D.C., pp. 3-67.

Reisener A., Stöckle B., and Snethlage R., 1995: Deterioration of copper and bronze caused by acidifying air pollutants, *Water Air Soil Pollut.*, **85**, 2701-2706.

資源エネルギー庁，2014：平成25年度エネルギーに関する年次報告　平成26年６月，経済産業省，URL：http://www.enecho.meti.go.jp/about/whitepaper/2014pdf/

水産庁，2010：海産生物毒性試験指針，水産庁増殖推進部，160pp.

Schindler D. W., 1988: Effects of acid rain on freshwater ecosystems. *Science*, **239**, 149-157.

Schults T. W., and Moulton B. A., 1985: Structure-activity relationships for nitrogen-containing aromatic molecules. *Environ. Toxicol. Chem.*, **4**, 353-359.

Setsukinai K., Urano Y., Kakinuma K., Majima H.J., and Nagano T., 2003: Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species. *J. Biol. Chem.*, **278**, 3170-3175.

Shimizu A., 1997: Reproductive cycles in a reared strain of the mummichog, a daily spawner. *J. Fish. Bio.*, **51**, 724-737.

Stadtman E. R., and Berlett B. S., 1997: Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 485-494.

Swartz R. C., Ferraro S. P., Lamberson J. O., Cole F. A., Ozretich R. J., Boese B. L., Schults D. W., Behrenfeld M., and Ankley G. T., 1997: Photoactivation and toxicity of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in marine sediment. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2151-2157.

高久　浩，2010：Ⅱ-１シオダマリミジンコの繁殖阻害試験法.「海産生物毒性試験指針」，水産庁，pp. 53-59.

高野秀明，1968:かわった養殖，シオダマリミジンコ，養殖，**5**，105-108.

高橋保雄，中川純一，細川奈津子，浅野正博，森田昌敏，1995：ある河川水におけるモニタリング物質の検索及び濃度レベル，環境化学，**5**，207-214.

Takahashi Y., Nakagawa J., Hosokawa N., Asano M., and Morita M., 1995: Identification and determination of organic compounds in a river water. *J. Environ. Chem.*, **5**, 207-214.

Tedetti M., and Sempéré R., 2006: Penetration of ultraviolet radiation in the marine environment. a review. *Photochem. Photobiol.*, **82**, 389-397.

Thimijan R. W., and Heins R. D., 1983: Photometric, radiometric, and quantum light units of measure

a review of procedures for interconversion. *HortScience*. **18**, 818-822.

Tokiwa H., and Ohnishi Y., 1986: Mutagenicity and carcinogenicity of nitroarenes and their sources in the environment. *Crit. Rev. Toxicol.*, **17**, 23-60.

Tyrrell R. M., 2000: Role for singlet oxygen in biological effects of ultraviolet A radiation. *Methods Enzymol.*, **319**, 290-296.

Uno S., Tanaka H., Miki S., Kokushi E., Ito K., Yamamoto M., and Koyama J., 2011: Bioaccumulation of nitroarenes in bivalves at Osaka Bay, Japan. *Mar. Pollut. Bull.*, **63**, 477-481.

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1971: Algal assay, Bottle test. Corvallis, O. R.: National Eutrophication Research Program, Pacific Northwest Environmental Research Laboratory.

US.EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1974: Marine algal assay procedure bottle test. Corvallis, O. R.: Eutrophication and Lake Restoration Branch National Environmental Research Center.

Vargas, M. A., Geihs, M. A., Maciel, F. E., Cruz, B. P., Nery, L. E. M., and Allodi, S., 2011: The effects of UV radiation on the visual system of the crab *Neohelice granulata*: a protective role of melatonin. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **154**, 427-434.

Vasconcellos P. D. C., Ccoyllo O. S., Balducci C., Mabilia R., and Cecinato A., 2008: Occurrence and concentration levels of nitro-PAH in the air of three Brazilian cities experiencing different emission impacts. *Water Air Soil Pollut.*, **190**, 87-94.

Voeikov V., 2001: Reactive oxygen species, water, photons and life. *Riv. Biol.*, **94**, 237-258.

Walker M., Zabel E., Ackerman G., Balk L., Wright P., and Tillitt D., 1996: Fish egg injection as an alternative exposure route for early life-stage toxicity studies: description of two unique methods. In "Techniques in Aquatic Toxicology" (ed. Ostrander G. K.). Lewis, New York, USA, pp. 41-72.

Walsh G. E., McLaughlan L. L., Lores E. M., Louie M. K., and Deans C. H., 1985: Effects of organotins on growth and survival of two marine diatoms, *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*. *Chemosphere*, **14**, 383-392.

Walther G. R., Post E., Convey P., Menzel A., Parmesan C., Beebee T. J., Fromentin J. M., Hoegh-Guldberg O., and Bairlein F., 2002: Ecological responses to recent climate change, *Nature*, **416**, 389-395.

Ward G. S., Cramm G. C., Parrish P. R., Trachman H., and Slesinger A., 1981: Bioaccumulation and chronic toxicity of bis (tributyltin) oxide (TBTO): tests with a saltwater fish, in Aquatic Toxicology and Hazard Assessment:Fourth Conference, ASTM STP 737 (ed. by Branason D. R., Dickson K. L.), American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 183-200.

Wislocki P. G., Bagan E. S., Lu A.Y. H., Dooley K. L., Fu P. P., Han-Hsu H., Beland F. A., and Kadlubar F. F., 1986: Tumorigenicity of nitrated derivatives of pyrene, benz [a] anthracene, chrysene and benzo [a] pyrene in the newborn mouse assay. *Carcinogenesis*, **7**, 1317-1322.

Wübben D. L., 2000: UV-induced mortality of zoea I larvae of brown shrimp *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758). *J. Plankton Res.*, **22**, 2095-2014.

Xia Q., Chou M. W., Yin J. J., Howard P. C., Yu H., and Fu P. P., 2006: Photoirradiation of representative polycyclic aromatic hydrocarbons and twelve isomeric methylbenz [a] anthracene with UVA light: formation of lipid peroxidation. *Toxicol. Ind. Health*, **22**, 147-56.

Xia Q., Yin J. J., Zhao Y., Wu Y. S., Wang Y. Q., Ma L., Chen S., Sun X., Fu P. P., and Yu H., 2013: UVA hotoirradiation of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons-induction of reactive oxygen species and formation of lipid peroxides. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **10**, 1062-84.

Yaffe D., Cohen Y., Arey J., and Grosovsky A. J., 2001: Multimedia analysis of PAHs and nitro-PAH daughter products in the Los Angeles Basin. *Risk Anal.*, **21**, 275-294.

Yu H., 2002: Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: photochemistry and phototoxicity. *J. Environ. Sci. Health. C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.*, **20**, 149-183.

和文要旨

ニトロアレーン（NPAHs）は主に化石燃料の不完全燃焼により非意図的に生成し，最終的には海域環境に流入すると考えられており，海産生物に対する影響が懸念されている。また，NPAHsと分子構造の近いピレン等の多環芳香族炭化水素は紫外線照射により，海産生物に対する毒性が強まることが知られており，太陽光によりNPAHsの環境に及ぼす影響が増大する可能性が考えられる。そのため，生残，成長，再生産などに対する一般的毒性に加えて，光条件を考慮したNPAHsの海産生物に対する毒性影響を明らかにし，既報の環境中濃度と比較することで，現時点におけるNPAHsの海洋生態系への初期リスク評価を行うことを目的とし，本研究を実施した。

栄養段階の異なる，海産藻類スケレトネマ，甲殻類シオダマリミジンコ，魚類マミチョグおよびマコガレイを供試生物とし，10種のNPAHsを被検物質として急性毒性試験を行った結果，試験生物によって物質ごとの感受性が異なり，生物の種類により強い毒性を示す物質が異なることを明らかにした。1-ニトロナフタレンまたは1-ニトロピレンを含んだコレステロールペレットを抱卵中のマミチョグメスの筋肉中に打ち込み，受精卵への移行試験を実施した結果，抱卵魚中の卵に化学物質を移行させる手法として，コレステロールペレット移植法の有効性を確認した。同手法を用いて，被検物質が移行した受精卵への毒性影響を検討した結果，いずれの物質もふ化率に最も顕著な影響を及ぼし，受精卵中の被検物質濃度を基に慢性毒性値を明らかにした。NPAHsのシオダマリミジンコに対する毒性の光照射による変化について検討した結果，検討した10種類のNPAHsのうち9種類は，光照射により毒性が強まった。毒性の変化を検討した物質のうち，1-ニトロピレンが最も光照射により毒性が強まり，暗条件下と比較して明条件下で毒性が千倍以上強まった。光照射による1-ニトロピレンの毒性の変化の原因について活性酸素種（ROS）および光分解物の発生の両面から検討した結果，毒性変化には主にROSの生成が寄与していることを明らかにした。

上記の試験で得られた毒性値または影響を及ぼす濃度と既報の環境水中濃度を比較し，NPAHsの初期リスク評価を行った。その結果，環境水中濃度が実測または推定されている5種のNPAHsのうち，4種については光による毒性変化や魚類に対する慢性毒性値の不確実性を考慮しても，現在の海水中濃度で海産生物に影響を及ぼす可能性は低いと想定されるが，1-ニトロピレンについては海産生物，主に藻類に影響を及ぼす可能性があることを明らかにした。本研究で得られた研究成果はこれまでほとんど研究例のないNPAHsの海洋生態系に対する環境影響評価に繋がるものであり，主に沿岸域の海洋環境の保全に有益な情報となることが期待される。

水研機構研報，第46号，43－83，平成30年
Bull. Jap. Fish. Res. Edu. Agen. No. 46, 43－83, 2018

北太平洋アカイカ釣り漁業における釣獲技術向上に関する研究*1

Study on improving jigging capture techniques for neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific Ocean

黒坂浩平*2

Kohei KUROSAKA

Abstract: The aim of this study is to improve jigging capture techniques for the neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, and identify the mechanism of, and countermeasures thereto, of frequently-observed catch loss due to hooked squid falling off.

In Chapter I, the history of neon flying squid fishing is summarized, problems of current squid fishing are mentioned, and a direction toward a technological solution is indicated. This chapter reports that drift net fishing of neon flying squid started in the 1970s, but that in 1992, a United Nations moratorium on the use of drift nets in the open seas resulted in a change in 1993 in neon flying squid fishing from drift net use to jigging (line catching). Today, most of the fishing boats operating in the area are Japanese, Taiwanese or Chinese. Chapter II describes the finding, obtained by DNA analysis, that the neon flying squid inhabiting the fishing grounds in the North Pacific Ocean belong to a single genetic group and are a resource requiring international fishery management to prevent overfishing by a growing number of fishing boats. For appropriate fisheries management of the neon flying squid in this fishing ground, the actual conditions of the jigging capture process need to be understood. The results of surveys in 2003 to 2008 are summarized in the subsequent five chapters. Chapter III investigates the mechanism of tentacle breakage during jigging as a possible cause of the fall-off event. Chapter IV describes the relationship between boat motion and falling-off of squid, and in Chapter V, transmission of boat motion to fishing lines is elucidated, providing a pointer to understanding the event of hooked squid falling off. To reduce squid fall-off from the jig, the effects of increased hauling speed of fishing line on squid hooking are analyzed in Chapter VI. Chapter VII describes a thorough examination of the hauling speed of jigging machines, aiming to reduce the fall-off ratio and increase the catch. In Chapter VIII, improvements of techniques for fishing neon flying squid and fishery management methods are discussed after integrating the results.

From an observation of upward reeling of jigs, the fall-off event of squid was classified into the following three patterns. Cases where only tentacles remained on the jigs are named "underwater fall-offs." Fall-offs after the squid have come out of the water but before touching the guide roller are "above-water fall-offs," and those that fall off while in contact with the guide roller are called "fall-offs upon contact." According to a survey of fallen-off squid conducted over three years from 2006 to 2008, the total fall-off ratio accounted for 36% of all squid hooked. The ratio of underwater fall-offs was notably high. The fall-off ratio of squid that had hooked by only one or more tentacles accounted for 92% of all fallen-off squid. When the relationship between mantle length and fall-

2017年11月21日受理（Recieved on November 21, 2017）
*1 東京海洋大学審査学位論文（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した。）
*2 開発調査センター 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい2－3－3クイーンズタワーB棟15階
(Marine Fisheries Research and Development Center, 2－3－3, minatomirai, nishiku, yokohama, kanagawa 220-6115, Japan)

off ratio was analyzed using a logistic curve, the fall-off ratio was found to be high in small squid: the mantle length (*ML*) at which 50% (F_{50}) fell off from the jig was estimated to be 37.4 cm. Observation of hooked conditions of caught and fallen-off squid and their body size showed that caught squid that had hooked by three or more arms were significantly larger than those that were hooked only by one or more tentacles. The high fall-off ratio of squid smaller than F_{50} was therefore likely attributable to the squid capturing the jig with one or more tentacles, followed by breakage of the tentacles. Squid larger than F_{50} have greater propulsive power, and are thus more likely than smaller squid to embrace the jig with their arms rather than their tentacles, resulting in a lower fall-off ratio. Measurement of the breaking strength of a tentacle of a squid smaller than *ML*41.4 cm showed that the tentacle broke under a force close to its body weight. This suggests that small squid are prone to tentacle breakage if they capture the jig using only one tentacle.

Past surveys have reported high fall-off ratio from jigging machines installed at either the bow or stern during stormy weather. In this study, the author investigated the reproducibility of the relationship between fall-off ratio and boat motion, and conducted a logistic regression analysis to investigate the effects of boat motion on squid fall-offs. A survey was conducted on a squid jigging vessel, the Hakurei Maru No.8 (276 GT, automatic squid jigging machines: 21 on the port side and 22 on the starboard side), in 2003 to 2005. The numbers of squid captured and those that fell off per jigging machine were counted once daily over 2 hours around sunset or after dark. When the sea was calm, with a wind at Force 4 or below, fewer squid fell from jigging machines that were nearer to the bow or stern and which had a longer cradle attached. In other words, a pattern of significantly lower fall-offs was observed for fishing lines that were relatively strongly influenced by pitching and rolling when the sea was calm. This was likely attributable to the capturing behaviors of this species. The motions of the jig caused by boat motion appeared to have triggered the squid to grasp the jig with both its arms plus its tentacles. On the other hand, with a wind at Force 5 or more in stormy weather, the fall-off ratio was significantly higher in machines at the stern and bow. To analyze this event, the author investigated whether or not the boat's motions were transmitted to the jig by measuring the motions of both the vessel and jigs using an M380L-D2GT acceleration data logger (Little Leonard Co. Ltd., Tokyo, Japan, hereinafter 'acceleration logger'). The power spectral density (PSD) was calculated using fast Fourier transform (FFT) to investigate the properties of acceleration signals recorded at the guide roller and fishing line. The calculation revealed that the spectrum detected at underwater jigs had the same period as the dominant period (0.125–0.090 Hz) of the boat motion detected at the guide roller, showing that boat motion was in fact transmitted to underwater jigs. During stormy weather, large motions of the boat are transmitted to the jigs, and this appears to cause tentacle breakage before the squid is able to embrace the jig with its arms.

To reduce fall-offs of squid from a jig, we need to understand the relationship between the motions of a jig while it is being hauled upwards and the hooking state of neon flying squid. The jigs' motions were measured by installing an acceleration logger on a fishing line used for squid jigging, where the wire and nylon gut joined. While detecting sudden increases in load exceeding 6 kgf at the jigging machine, which were displayed on the integrated control and display, the time and depth of capture were recorded. The behaviors of a neon flying squid while it captured a jig were then assessed from the data and the accelerogram of the acceleration logger. The upward speed of the fishing line one second before a neon flying squid captured a jig was calculated using the difference in depth between two adjacent depth data, which were also recorded during the survey. The catch or fall-off of the said squid was also recorded. We noted that a squid embraced a jig with its arms when the upward speed of the fishing line was around 1.5 m/s but captured the jig with only its tentacles when the speed was about 2.5 m/s. This observation suggests that there

is a threshold value of upward speed of a fishing line that determines whether a neon flying squid catches a jig with its tentacles or embraces it with its arms.

To measure relative fall-offs of neon flying squid during jigging, the drum hauling speed was altered. Six different drum hauling speeds, ranging from 50 to 80 revolutions per minute, were tested and their relationship with the fall-off ratio was investigated. A drum hauling speed of 50 rpm was found to result in a low fall-off ratio. To estimate the upward speed of the fishing line at which a neon flying squid is most likely to capture a jig with its tentacles, the relationship between the tentacle-hooked ratio (the ratio of tentacle hooking as a proportion of all hooking) and upward jig speed was investigated. The upward jig speed at which a half of all squid capturing a jig caught the jig only with one or more tentacles was designated the 50% tentacle-hooked ratio (R_{50}) and was inferred to be 1.75 m/s. It was deduced that the tentacle-hooked ratio increases at upward jig speeds that exceed R_{50}, resulting in a high tentacle-hooking ratio and fall-off due to tentacle breakage. In respect to the relationship between drum hauling speed and R_{50}, 60 rpm or slower resulted in an upward jig speed within the 0.92–1.65 m/s range, or slower than R_{50}. On the other hand, when the drum hauling speed was 65 rpm or faster, the upward jig speed rose to 1.79–2.20 m/s, and speeds greater than R_{50} were detected. A demonstration experiment was conducted based on these results. When squid were fished by sinking the tip of the line to a depth of 150 m, the number of squid caught per hour per line (CPUE) was the greatest at 70 to 75 rpm. This was because the fast drum hauling speed increased the number of squid caught per stroke or cycle of drawing and pulling the line. Lowering of the drum hauling speed to 50 rpm did not increase the CPUE in this experiment, likely because large squid of F_{50} or larger accounted for 64% of all squid. The catch can therefore be increased by increasing the drum hauling speed to 70 to 75 rpm if the squid are *ML*35 cm or larger and reducing the drum hauling speed to reduce the fall-off ratio if the squid are smaller than *ML* 35 cm.

This study revealed that the mechanism of neon flying squid falling off from a jig is due to the squid capturing a jig with one or more tentacles followed by breakage of the tentacle during hauling. The author proposes a possible means of reducing fall-off by controlling the drum hauling speed and the rational use of resources by searching fishing grounds for larger squid.

Key words: neon flying squid, fall-off, logistic curve, tentacle breakage, squid jigging

---

目次

第Ⅰ章　アカイカ釣り漁業の変遷
1.1　流し網漁業
1.2　イカ釣り漁業
1.3　輸入動向
1.4　外国漁船との競合
1.5　本研究の概要
第Ⅱ章　ミトコンドリアDNA分析の塩基配列から推測したアカイカの集団構造
2.1　緒　　言
2.2　材料と方法
2.3　結　　果
2.4　考　　察
第Ⅲ章　釣獲過程におけるアカイカの触腕破断機構
3.1.　緒　　言
3.2.　材料と方法
3.2.1　釣獲と脱落状況の観察
3.2.2　体サイズと脱落率
3.2.3　触腕破断強度の測定
3.3　結　　果
3.3.1　釣獲と脱落状況の観察
3.3.2　体サイズと脱落率
3.3.3　触腕破断強度の測定
3.4　考　　察
第Ⅳ章　アカイカ釣りにおける釣り落としと船体運動との関係
4.1　緒　　言
4.2　材料と方法
4.2.1　船体位置による釣獲・脱落状況の観測

4.2.2 脱落率と船体運動
4.3 結　果
4.3.1 船体位置による釣獲・脱落状況の観測
4.3.2 脱落率と船体運動
4.4 考　察
第Ⅴ章 アカイカ釣り操業における釣具ラインの運動と船体運動検出の試み
5.1 緒　言
5.2 材料と方法
5.3 結　果
5.4 考　察
第Ⅵ章 自動イカ釣機の釣具ライン上昇速度がアカイカの擬餌針捕捉行動に及ぼす影響
6.1 緒　言
6.2 材料と方法
6.2.1 加速度ロガーによる釣具ライン上昇速度の計測
6.2.2 針掛かりしたアカイカの観察
6.3 結　果
6.4 考　察
第Ⅶ章 アカイカ釣り漁業における釣具巻上げ回転数制御による脱落率低減
7.1 緒　言
7.2 材料と方法
7.2.1 巻上げ回転数の最適化試験
7.2.2 釣具ライン上昇速度と擬餌針の捕捉行動に関する計測
7.2.3 触腕による擬餌針捕捉率に関する解析
7.2.4 釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係
7.3 結　果
7.3.1 巻上げ回転数の最適化試験
7.3.2 触腕による擬餌針捕捉率に関する解析
7.3.3 釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係
7.4 考　察
第Ⅷ章 総合考察
謝　辞
文　献

第Ⅰ章　アカイカ釣り漁業の変遷

1.1 流し網漁業

アカイカ（*Ommastrephes bartramii*）を対象とした釣り漁業は1970年代中頃からのスルメイカの不漁を補うため三陸や道東沖で始まり，1977年には年間12万トンが釣獲されていた（酒井，2012）。他方，同海域でさけます流し網に混獲されていたアカイカは産業の対象として重視されていなかった。しかし，1970年代後半から冷凍設備を持ったイカ流し網漁船が出現し，鮮度のよいアカイカを水揚げするようになったことから，需要が高まり，ソフトサキイカなどの加工技術が開発され（中谷，2003），アカイカ流し網漁船が増加し始めた（日本遠洋いか漁業協同組合，2008）。これは1978年に公海におけるさけます流し網漁業が全面禁止となったため，不要となった流し網を利用したのが始まりである。アカイカを対象とする北太平洋公海のイカ流し網漁業は，夜間に浮上したアカイカを漁獲するものである。イカ流し網漁業は，イカ釣り漁業よりも効率的にイカを漁獲できることから急速に発展した（日本遠洋いか漁業協同組合，2008）。他方，釣りによるアカイカの年間漁獲量は，1978年に12.4万トンと最高を記録した（Fig. 1）。このため，既存の釣り漁業と漁場を巡る競合が発生した（田中，1987）。これを回避するため，日本政府により1978年から東経170°以西を釣り漁業，それ以東（西経145°まで）を流し網漁業とする規制が実施された（上野・酒井，2010）。以後，イカ釣りによる漁獲量は除々に減少し，1980年代後期には約２万トンとなった（Fig. 1）。

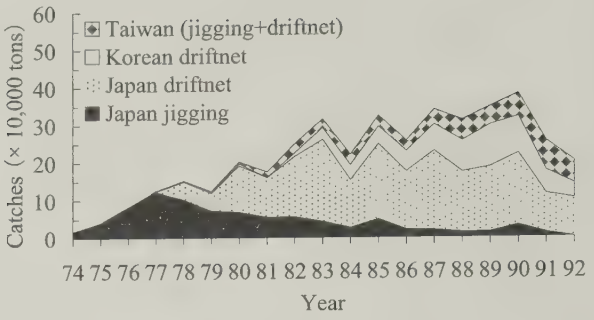


Fig. 1. Yearly catch trends of neon flying squid in the North Pacific during 1974–1992, by countries and fishing types (Annual Statistics of Fishery and Fish Culture and FAO fishstat plus).

イカ流し網漁船数は1978年の800隻余りから1981年の534隻へ減少したが（谷津ら，1994），流し網によるアカイカの漁獲量は新漁場の開発と漁船の大型化（谷津ら，1994）により，さらに伸びをみせ，1990年代初めまでに毎年６月から12月末までの７ヶ月間で15～20万トン（Fig. 1）となった。これに対応して，日本政府は1981年にイカ流し網漁業を承認制とし（田中，1987），1982年には529隻のイカ流し網漁船を承認した。1980年代には韓国と台湾も参入し，日本，韓国，台湾の３国による年間総漁獲量は24.8万～37.8万

トン（1985～90年平均32.8万トン）となった（Fig. 1）。

1.2　イカ釣り漁業

北太平洋の流し網漁業はその漁法の性格上，アカイカ以外の海産ほ乳類や海鳥等の混獲が避けられない（Northridge, 1991）。このような状況から，環境保護団体の強い影響を受けたアメリカ政府は，1991年公海流し網規正法を制定した。アメリカ政府は海産ほ乳類の保護を目的としたマグナソン法を1978年に制定しており，違反した国には経済制裁を課すことができる。このため，アメリカ政府はこれまでにさけます流し網禁止や捕鯨禁止の際に，強い政治的圧力の道具として使用してきた（日本遠洋いか漁業協同組合，2008）。また，オーストラリアやニュージーランドも公海流し網に反対の立場をとるようになり，国際的な公海流し網禁止の動きとアメリカ政府の政治的な圧力も加わり（日本遠洋いか漁業協同組合，2008），国連決議で1993年から大規模な公海流し網漁業の一時停止（モラトリアム）となった（Burke *et al.*, 1994）。流し網が操業できなくなった1993年以降，廃業を余儀なくされる漁船に対して，日本政府は代替漁法によるアカイカ操業の継続が可能となるよう，表層曳きトロールによるアカイカ操業の試験操業許可を30隻に認めた。しかし，試験操業の結果，年間漁獲量は最大で0.6万トンに終わり（松下ら，1995），表層曳きトロールはアカイカの漁場には適していないことがわかった。以上の背景から日本近海でアカイカを対象とした釣り漁業が復活した。他方，アカイカの群は規模が小さく，分散している（本多・小松，1978）。このような群れの特性を考慮して，稲田ら（1996）は水中灯を利用した操業技術を構築した。さらに，アカイカは魚体が大きく重いため釣機や釣針の改良が行われ，本種に関する釣り漁法の技術と漁場探索法が確立された（水産庁，1994；水産庁，1995；水産庁，1996）。その結果，1994および1995 年にはともに日本近海で年間約７万トンの漁獲が上げられた。170°E以東の旧流し網漁場においても，イカ釣り漁船が出漁するようになり，1995年以降年間0.2～２万トンを漁獲して重要度が増している。170°E 以西の漁業の主体は，沖合で操業する中型イカ釣り漁船（30～185トン）である。1994～1998年は170°E 以西で年間６万トン以上の漁獲量を上げたが，資源が急減した1999 年以降は年間１～３万トンまで漁獲量が減少した（Fig. 2）。2001年以降，収益性の低下にともなう操業経費の増加が公海域の日本漁船を減少させる結果となっている（Kurosaka *et al.*, 2012）。したがって，漁業の主力である中型イカ釣り漁船の減少およびスルメイカ釣り操業等との兼業もあり，アカイカの漁獲量は多くない（酒井，2012）。この背景には1999年に北太平洋で起きたレジームシフトに関連する基礎生産力の低下（Minobe, 2002）や，外国漁船の増加による競合の激化がある（Ichii, 2006）と考えられる。最近は，台湾や中国の釣り漁船が日本のEEZ付近でアカイカを漁獲している（酒井，2012）。台湾では，もともと流し網を用いた操業は少なく（酒井，2012），FAOの統計上でモラトリアム以前に年間７万トン（1992年）を超えることはなかった（Fig. 1）。モラトリアム以降では，2003年に年間９万トンを漁獲しているが，2011年には年間0.4万トンと漁獲量は減少している（Fig. 2）。中国漁船の隻数は1996 年には年間約350隻，その後は約400～600隻（一井，2002）に増加した。しかしその後，資源水準の低下に伴い出漁隻数はやや減少して，中国現地での聞き取り調査などから判断してここ数年は150～250隻程度が出漁していると考えられる（酒井，2012）。これらの外国漁船による漁獲は，1995～2005年には８～11月にかけて７～13万トンが報告（Chen *et al.*, 2008）されている。

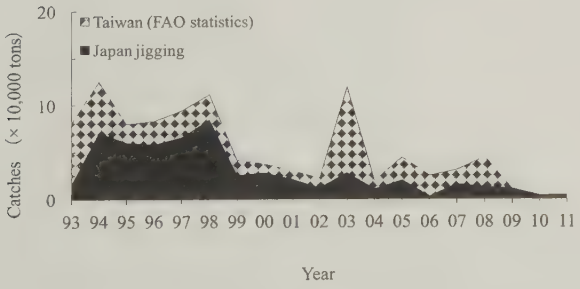


Fig. 2. Yearly Catch trends of neon flying squid in the North Pacific during 1992-2011 (Annual Statistics of Fishery and Fish Culture and FAO fishstat plus).

1.3　輸入動向

イカ類の輸入品は原材料，調整品，塩干品の３つに分類される。輸入実績は，原材料（モンゴウイカを除くその他のイカ類）が，2000年の年間5.4万トンと最高を記録し，2007年以降は年間3.2～3.7万トンと減少傾向にある（Fig. 3）。調整品は1990年に年間１万トンであったものが次第に増加し，2000年には年間２万トンを超え，2002年には年間３万トン台に，2004年には年間４万トン台へと着実に増加している。ミールを含むイカ類の塩干品は，1990年には年間6.3万トンを最高に，その後は年間３～５万トンの間をほぼ横ばい

で推移している（Fig. 3）。これは，原材料，塩干品が輸入割当（IQ）の対象となっているのに対し，調製品はIQの規制対象外であること（日本遠洋いか漁業協同組合，2008），国内における加工産業の人件費等の高騰から，人件費の安い中国などに加工拠点を移し，イカのIQ対象外となる半製品あるいは完成品として日本に輸入することが活発になっていることを示している。

国別の日本へのイカ類調整品輸出量は，中国が1990年に年間0.2万トン足らずであったものが，2000年には年間1.5万トン，2002年には年間2.2万トン，2005年には年間3.6万トンと著しい増加を示している（Fig. 4）。

さらに，中国から日本へのイカ類輸出の全体量を見ると，上述した調製品が一番多く，2007年に年間3.9万トンに達し，その後も年間3.5～3.8万トンを維持している（Fig. 5）。次いで原材料であるイカ類（活イカ，生鮮，冷凍品）で，2000年に年間2.4万トンの最高を記録し，その後は年間１～２万トンの範囲にある（Fig. 5）。イカ加工原料の価格は，1990～1996年までに，キロ当たり500円を超える価格であったが，2001年以降，概ね400円台半ばの価格帯を維持している（日本遠洋いか漁業協同組合，2008）。

これらの中国からの輸入数量は，製品重量であるため必ずしもイカ類そのものの重量を示しているわけではない。そこで，2011年の輸入量（イカ類の原材料（活魚，生鮮，冷凍品）3.2万トン，調製品3.8万トン，塩干品0.03万トン）を原魚換算した。その結果，合計して9.9万トンが国内に搬入されていると推定でき，このうちの相当部分をアカイカが占めるものと考えられる。

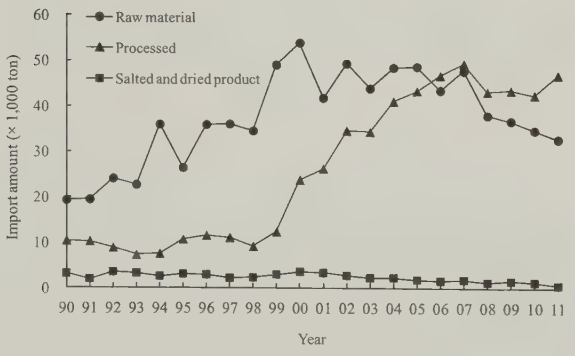


Fig. 3. Yearly trends of import squids products during 1990–2011 (Annual statistics of fishery and fish culture and Marine product power data book).

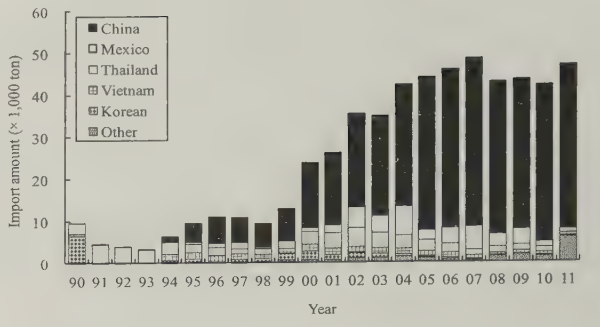


Fig. 4. Processed squids imports Japan, according to the countries, during 1990–2011 (Annual statistics of fishery and fish culture and Marine product power data book).

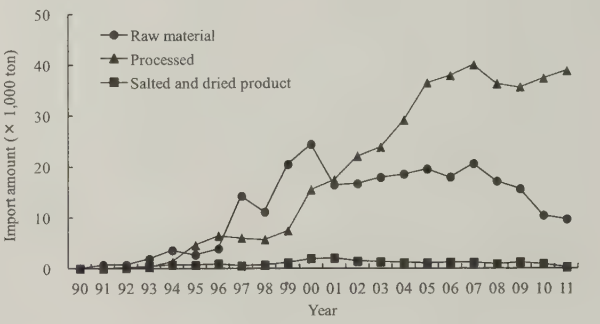


Fig. 5. Total imports (raw material, processed, salted and dried product) from China to Japan during 1990–2011 (Annual statistics of fishery and fish culture and Marine product power data book).

1.4 外国漁船との競合

北太平洋では1997年に約300隻，2000年には約1,000隻の漁船団がアカイカ漁業に参入したとみられる（上野・酒井，2010）。一方で操業の問題も多い（黄金崎，2002）。日本では漁場を見つけた際は，最初に見つけた者に優先権があり，後続の者は先着の船より３マイル以上の船間距離をおいて操業を行っている（黄金崎，2002）。他方，外国漁船は自ら漁場を見つける例は少なく，日本漁船の操業位置に向けて集結する場合がほとんどで，操業海域に入ってきた場合，１マイル間隔に10隻ほどが集まってくる（Fig. 6）。また，中国漁船については，10～13隻が１つの船団となり，操業船（Fig. 7a）と漁獲物を集める中積み船（Fig. 7b）から構成されている（黄金崎，2002）。一方で，公海で禁止されている流し網を積載している外国漁船（Fig. 8）が北太平洋のアカイカ漁場で確認されている。

北太平洋のアカイカ漁場は外国漁船の出漁隻数が

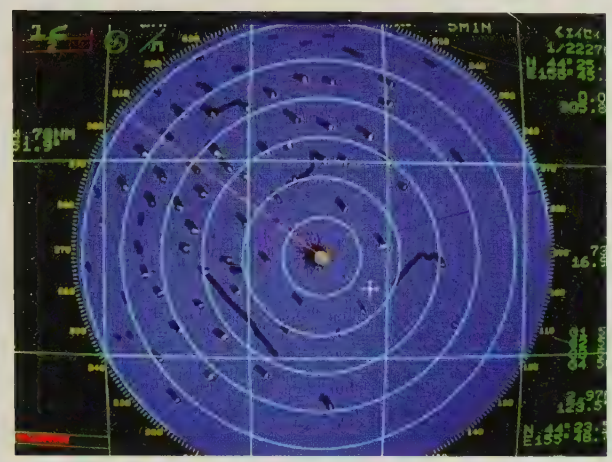


Fig. 6. Foreign fishing fleets for neon flying squid are operating within 6 mile radius based on Hakurei-maru No.8 on September 21th, 2005 in North Pacific.

Fig. 8. Foreign illegal driftnet boats in North Pacific (44° 25′ North Latitude, 155° 42′ East Longitude) on September 21th, 2005. Provision of photographs by JAMARC.

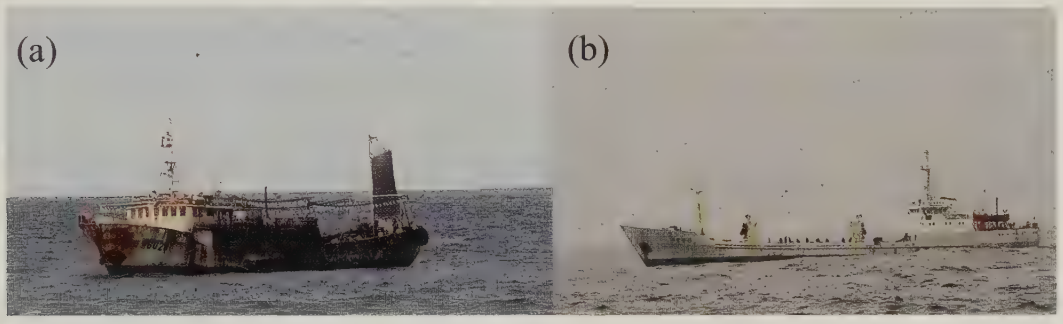


Fig. 7. (a) Chinese commercial squid jigging boats in North Pacific.
(b) Chinese carrier boats for neon flying squid in North Pacific.

年々増大し，かつ操業海域も拡大しつつあり，もはや日本漁船だけの漁場でなくなってきている（黄金崎，2002）。これらの海域における資源を持続させ有効利用していくことが，イカ釣り漁業全体の経営安定にもつながっていくものと考えられる。このためにも北太平洋のアカイカ操業について操業秩序の確立が急がれるとともに，北太平洋のアカイカ資源の国際管理体制の構築が急務である。そこで，以下に述べるような項目に沿って研究を実施した。

1.5　本研究の概要

本研究はアカイカの釣獲技術の向上を目的として，操業現場で多発する釣り落とし現象，すなわち脱落の発生機構とその対策を明らかにしたものである。

第Ⅰ章では，北太平洋のアカイカの変遷と漁業実態について明らかにし，北太平洋のアカイカ資源の国際管理体制の構築が必要であることを指摘した。第Ⅱ章では，資源の管理方策について検討するため，ミトコンドリアDNA分析の塩基配列から推測したアカイカの集団構造について解析した。以上の2章をもとに，アカイカ資源の適切な漁業管理を行うには，北太平洋のイカ釣り操業過程の実際を理解し説明する必要がある。そこで第Ⅲ章では，触腕破断による釣り落としの減少を目的として擬餌針の巻上げ過程の観測結果から，アカイカの脱落現象と脱落の発生要因について明らかにした。さらにロジスティック式を適用して外套背長と脱落率との関係を求め，擬餌針から脱落する50％脱落率（F_{50}）時の外套背長を推定した。第Ⅳ章では脱落率と船体運動との関係を検証することとし，船体運動が脱落に及ぼす影響を具体化するためにロジスティック回帰分析を行った。第Ⅴ章では加速度ロガーを使用して船体および釣具の運動を計測し，船体の運動が釣具に伝搬されているのかの検証を行った。検証にあたっては，ガイドローラーおよび釣具ラインにて記録される加速度信号の特性を調べるために，高速フーリエ変換（FFT）によるパワースペクトル密度（PSD）の計算を行った。第Ⅵ章では，脱落を低減

するためイカ釣機を利用する釣具ラインの上昇速度に着目し，擬餌針からのアカイカの脱落を低減するために，巻上げ過程における釣具の運動とアカイカの針掛かり状態との関係を把握した。第Ⅶ章では，釣獲過程におけるアカイカの脱落現象を低減する方策として，釣具の巻上げ回転数に着目し，毎分50～80回転の条件で6段階にこの回転数を変化させて操業試験を行い，脱落率との関係について調べた。さらに，アカイカが触腕で擬餌針を捕捉する釣具ラインの上昇速度を推定するため，触腕による捕捉率（針掛かり個体総数に占める触腕による擬餌針捕捉個体数の割合）と釣具ラインの上昇速度との関係を検討した。その結果より，擬餌針を捕捉したアカイカのうち半数が触腕で捕捉した場合の釣具ラインの上昇速度，すなわち50%触腕捕捉率（R_{50}）時の上昇速度を推定した。この結果を踏まえて実証試験を行い，脱落を低減させる有効な方法であることを解析結果と実証例をともに提案した。

第Ⅷにおいて本研究を統括し，漁業管理への応用と今後の展望や問題点について考察することとした。なお，本研究を通してアカイカの釣獲過程は以下のように理解された。

アカイカ釣り漁業を例にとった釣獲過程のネットワークモデルをFig. 9に示した。対象魚がある行動を起こすための条件となる生理的な内部要因，そして外的環境要因によって釣具の条件が変化して対象魚の生理要因が関与していく道筋を示したもので，釣獲に至るまでの一連の過程をまとめた。アカイカの釣獲過程は，採餌行動，擬餌針の視覚認知，接近，捕捉，針掛かり，釣獲/脱落から成る。

本研究ではこの一連の釣獲過程のうち，捕捉から釣獲/脱落に至るまでの過程について明らかにした。

アカイカは，釣具ラインの上昇速度が1.75m/sよりも速い場合，外套背長35cm以上の大型サイズでは，触腕による擬餌針捕捉を行い，その後に漏斗による強い海水吐出推進力で釣具ラインの上昇に対応し，触腕以外の他腕を使ってしっかりと擬餌針を抱き込むものと推察した。他方，外套背長35cm未満の小型サイズでは吐出推進力が劣るために，擬餌針の上昇に対応で

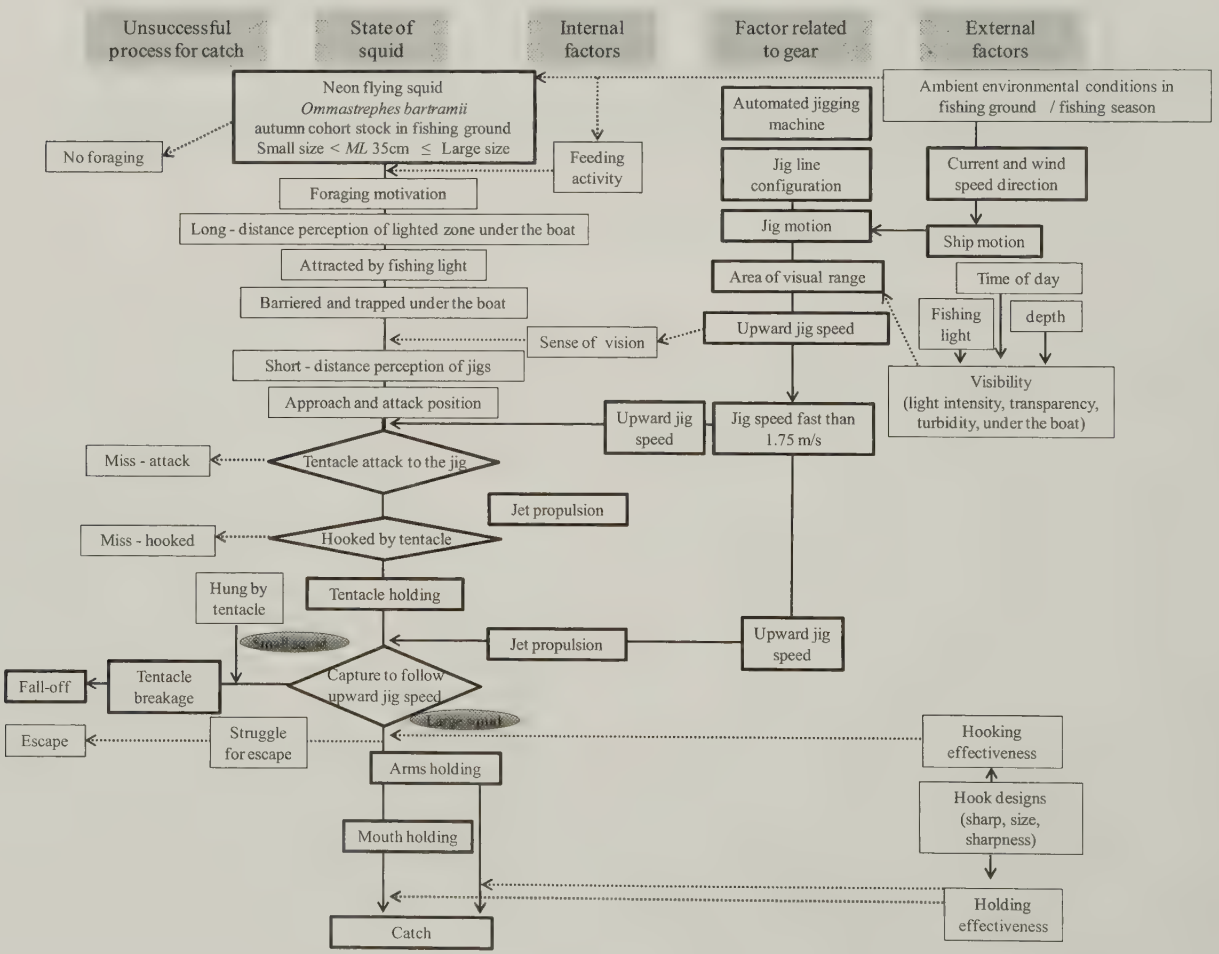


Fig. 9. Network model on capture process of neon flying squid in jigging fishery.

きずに触腕のみで引き上げられる状況になり，そこで触腕破断強度が小さいため，破断して脱落する割合が高いことがわかった。この釣獲過程における水中の触腕破断は，触腕を伸ばして擬餌針を捕捉した後に，釣具ラインの巻上げ・上昇にともなう自重や流体抵抗に加え，海水吐出による推進力で逃避する際に触腕に過大な負荷がかかることも加わり，脱落すると推察した。

第Ⅱ章　ミトコンドリアDNA分析の塩基配列から推測したアカイカの集団構造

2.1　緒　　言

前章で述べたように，北太平洋海域のアカイカについては，日本船の漁獲量が減少している状況のもとで，外国漁船の操業隻数が多く，漁獲量も増加傾向にある。このことからアカイカ釣り漁業が持続できるように適切な漁業管理方策の策定が望まれている。漁業管理について検討するためには詳細な資源構造を把握する必要がある。これまで当該海域のアカイカの産卵場は，南西諸島から小笠原諸島周辺，ハワイ諸島周辺の２カ所があり，それぞれ秋生まれ群と冬春生まれ群が対応することが知られている（谷津ら，1998）。それぞれの群は南北に季節的な移動を行い，春季から夏季にかけては北上して魚類，頭足類，甲殻類などを捕食する接餌回遊を行う。また，秋季から冬季にかけては南下する産卵回遊を行うと報告されている（村田・中村，1998）。アカイカの集団構造については，アイソザイム分析の結果から太平洋の西部と東部の海域で対立遺伝子頻度に差があると報告されている（Katugin, 2002）。また，寄生虫を利用した集団解析では，秋生まれ群には中部北太平洋系群と東部北太平洋系群が存在すると報告されている（長澤ら，1998）。現在，水産庁による資源評価では，秋生まれ群は一つの群れとして扱われ，プロダクションモデルを用いてMSYを推定して資源を管理している（Ichii *et al.*, 2006）。しかし，北太平洋のアカイカは重要な国際資源であり，より正確な資源評価を行うためには，資源構造を再確認する必要がある。今回，海洋水産資源開発調査によって，北太平洋の日付変更線の東西に渡る広い範囲でアカイカが採集できたので（黒坂ら，2009），それらのサンプルを用いて，ミトコンドリアDNA（mtDNA）の塩基配列分析によって集団構造を明らかにすることを目的とした。

2.2　材料と方法

本研究で用いた標本は，海洋水産資源開発調査を行った際に得られたものである（黒坂ら，2009）。この調査は2008年６－９月に，中・西部北太平洋海域（Lat. 40°-46° N,Long. 150° E-170° W）において，（独）水産総合研究センターが用船した第八白嶺丸（276GT）で実施した。また，インド洋で採集したアカイカについては，2009年10月-2010年９月に，南インド洋西部公海域（Lat. 20° S-50° S, Long. 30° E-70° E）において，（独）水産総合研究センターが用船した第五十八富丸（401GT）で採集したものである（蝦名ら，2010；蝦名ら，2011）。採集したアカイカは，船上で外套背長を測定し，触腕とその他の腕を切り取り冷凍保存した。これらのサンプリング日時・採集位置をFig. 10とTable 1に示した。

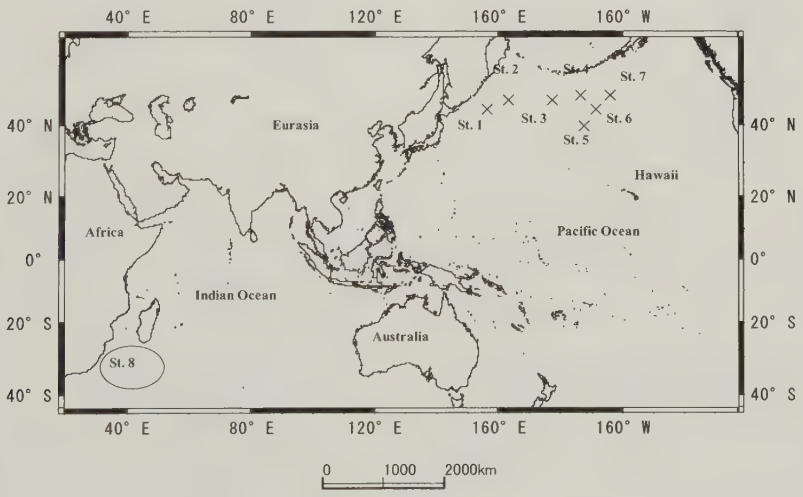


Fig. 10. Sampling locations of neon flying squid.

Table 1. Sampling information and population genetic parameters of neon flying squid based on nucleotide sequence analysis of mtDNA ND1-16SrRNA gene regions

St.	Date	Latitude	Longitude	Number	*h**	*Hd**	*K**	*Pi**
1	2008/9/20	43-28.9 N	156-18.2 E	23	10	0.8854	3.0590	0.0027
2	2008/9/17	45-10.9 N	163-00.2 E	19	7	0.8187	2.6780	0.0024
3	2008/9/4	45-59.7 N	177-06.6 E	9	6	0.9167	3.5560	0.0032
4	2008/7/27	46-04.5 N	173-47.7 W	20	8	0.8053	3.2000	0.0028
5	2008/6/2	39-40.7 N	172-25.3 W	50	13	0.8776	3.0408	0.0027
6	2008/7/15	43-11.1 N	168-43.4 W	24	10	0.8804	3.0145	0.0027
7	2008/8/16	46-59.5 N	164-01.7 W	22	10	0.8053	3.6150	0.0032
8	2009/10-2010/9	34-36S	40-50E	8	2	0.2500	0.2500	0.0002
Total				175	32	0.8807	4.2175	0.0037

* *h, Hd, K, and Pi* indicate number of haplotypes, haplotype diversity, average number of nucleotide differences, and nucleotide diversties, respectively.

サンプルは，研究室で筋肉約50mgを切り出してQuickGene（Fujifilm）を用いて，DNAを抽出した。DNAをテンプレートとして，mtDNA遺伝子領域のND1下流から16S rRNAの半ばにかけてPCRを行った。既存のスルメイカ（AB240152）（Akasaki *et al.*, 2006）とアメリカオオアカイカ（EU068697）（Staaf *et al.*, 2010）のmtDNAの塩基配列情報から，２種で保存されている配列にプライマーTP11249L（5' -cat cag cca aag gtt gag gt-3'）とTP12504H（5' -tta ttg cat ggg gga taa gc-3'）を設計した。また，Folmer *et al.*（1994）のプライマーLCO1490（5'-ggt caa caa atc ata aag ata ttg g-3'）とHC02198（5'-taa act tca ggg tga cca aaa aat ca-3'）を用いて，mtDNAのCOI遺伝子領域をPCR法で増幅した。サーマルサイクラーにはABI9700（Applied Biosystems）を用いた。PCR反応は，94度２分加熱後，94度30秒，55度30秒，72度２分を30サイクル行い，最後に72度で７分加熱した。PCR反応溶液は，テンプレートDNA溶液１μl，2.5mMdNTP溶液2.5μl，10×PCR Buffer（TaKaRa）2.5μl,50mMの各プライマー0.5μl,TaKaRa Ex *Taq* Polymerase 0.125μlに，総量が25μlになるように超純水を加えたものを用いた。PCR産物を1.5%アガロースゲル（NuSieve3: 1，TaKaRa）で電気泳動し，エチジウムブロマイド染色によって増幅産物の確認をした。増幅産物は，Quick PCR Purification Kit（Qiagen）を用いて精製した。PCRで使用した同じプライマーを用いてBig Dye Terminator cycle sequencing kit version 3.1によってシーケンス反応を行い，ABI3130XL（Applied Biosystems）で塩基配列を決定した。得られた塩基配列から，CLUSTAL W（Thompson *et al.*, 1994）によりアライメントを行った後，DnaSPVer4.10.9（Rozas *et al.*, 2003）を用いてハプロタイプの分類を行った。

海域間の遺伝的分化を検討するため，AMOVA（analysis of molecular variance）分析（Excoffier *et al.*, 1992），ペアワイズのF_{ST}分析（Weir and Cockerham, 1984），及びExact test（Raymond and Rousset, 1995）を行った。遺伝的変異性の指標としてハプロタイプ多様度（Nei and Tajima, 1981）と塩基多様度（Nei, 1987）を求めた。これらの分析には，Arlequin Ver. 3.1 program（Excoffier *et al.*, 2005）を用いた。MEGA5.05ソフトウエア（Tamura *et al.*, 2011）によって，Kimura two-parameter法（Kimura, 1980）によって海域間の遺伝距離を求めて，NJ法（Saito and Nei, 1987）により海域間の関係を求めた。また，TCS Ver1.2.1（Clement *et al.*, 2000）によって，信頼限界95%でハプロタイプネットワーク図を作成した。

北太平洋のアカイカは外套背長組成によって，５月の時点では外套背長30cm以上が秋生まれ群，30cm以下が冬春生まれ群，８月の時点で34cm以上が秋生まれ群，30cm以下が冬春生まれ群とされている（Murata and Hayase, 1993）。そこで，St. 1－3は９月に，St. 4－7は７－８月に操業を行っているので，34cm以上を秋生まれ群，34cm未満を冬春生まれ群として取り扱った（Table 1）。St. 6は６月に採集を行っているので，30cm以上を秋生まれ群として取り扱った。秋生まれ群と冬春生まれ群に遺伝的な差異がないか，ペアワイズのF_{ST}分析（Weir and Cockerham, 1984），Exact test（Raymond and Rousset, 1995），及びRoff and Bentzen（1989）のχ^2検定によって検討した。

2.3 結　果

Folmer *et al.*（1994）のプライマーではmtDNAのCOI領域約710bpを増幅することができたが，シーケ

ンス分析で得られたフェログラムで綺麗な波形が得られず，塩基配列を決定することができなかった。そのため，COIは使用せずND１から16S rRNAの領域を用いて解析を行った。PCR法でND１の下流から16S rRNAの半ばまで約1,126bpの大きさの産物をPCR法にて増幅することができた。増幅したPCR産物から塩基配列分析を行い，175個体の塩基配列を決定した。増幅した領域は１～95がND1，96～165と172～238がtRNA-Leu，239～1,126が16S rRNA領域であった（Table 2）。得られた塩基配列の採集位置ごとのサンプル数，ハプロタイプ数（*h*），ハプロタイプ多様度（*Hd*），平均塩基置換数（*K*），塩基多様度（*Pi*）をTable 1に示した。得られたハプロタイプは32個で，ハプロタイプ多様度は0.8807で，平均塩基置換数は4.2175で，塩基多様度は0.0037であった。インド洋のサンプルについては，出現したハプロタイプは２個で，ハプロタイプ多様度は0.2500と小さかった。得られた塩基配列はDNAデータバンクにAB509422からAB509451とAB635465，AB635466で登録した。

採集海域ごとのハプロタイプの頻度とハプロタイプの変異部位をTable 2に示した。北太平洋で出現したハプロタイプは30個あり，インド洋で出現したハプロタイプは２個であった。両大洋に共通するハプロタイプは認められなかった。インド洋のハプロタイプOB31とOB32の８カ所の変異部位は北太平洋の塩基配列と異なり，インド洋特有の塩基置換と考えられた。北太平洋では，OB１～４，12～13の６個のハプロタイプの出現頻度が高かった。これら以外のハプロタイプは出現頻度が１～２個と低いマイナーのハプロタイプであった。

ハプロタイプネットワーク図をFig. 11に示す。OB１，OB２，OB３の主要なハプロタイプがあり，それぞれに１塩基置換程度の違いのあるハプロタイプが派生する星状ネットワークであった。大きく３つのクレードに分けられることが分かった。インド洋のハプロタイプOB31とOB32は北太平洋のハプロタイプとは大きく離れていることが分かった。また，北太平洋の集団を特定するような，ハプロタイプはなかった。

標本採集位置間に遺伝的差異あるかどうかをAMOVA分析によって検討した結果，標本採集位置間の差異によって生じている変異の割合は31.72%（$P=0$）となり，有意に大きな値であった。標本採集位置間のF_{ST}値とExact TestのP値をTable 3に示す。ボンフェローニの多重解析の補正を行って，海域間に有意差がある（$P<0.05$）組み合わせを調べた。St. 8のインド洋と北太平洋の各海域に有意差があった（$P<0.01$）。しかし，北太平洋の採集位置間には有意差はなかった。

次に，北太平洋の採集位置間に遺伝的差異があるかどうかをAMOVA分析によって検討した結果，標本採集位置間の差異によって生じている変異の割合は0.53（$P=0.312$）となった。北太平洋の採集位置間についてボンフェローニの多重解析の補正をおこなって採集位置間の有意差がある組み合わせを調べたところ（Table 3），有意な差違がある組み合わせはなかった。しかしながら，F_{ST}値とExact TestのP値はSt. 1－7などで低い値であった。また，Kimura two-parameter法によって求めた遺伝距離から海域間の関係をNJ法で系統樹を作成した（Fig. 12）。インド洋のSt. 8は北太平洋と遺伝的に大きく離れていることが分かった。北太平洋の海域間の違いは非常に小さいものの，一番西のSt. 1と一番東側のSt. 7，一番北側のSt. 4の海域が離れていた。他の海域も西から東と物理的な距離に従って，クラスターを形成している傾向があった。

F_{ST}値とExact TestのP値と，NJ treeの結果から一番西のSt. 1と一番東側のSt. 7，一番北側のSt. 4の海域が離れていた。そこで，St. 1と他の海域，St. 7と他の海域などのように，北太平洋海域を大きく東と西に振り分けてAMOVA分析を行った（Table 4）。その結果，様々な海域に分けて解析しても，採集海域間に有意差はなかった。また，秋生まれ群と冬春生まれ群のハプロタイプ頻度についてX^2検定を行ったところ，P値は0.098となり，５%で有意差はなかった。

2.4 考　察

アカイカ科を含む頭足類の開眼亜目の塩基配列では，COI領域などがmtDNA内に２カ所存在することが報告されている（Akasaki *et al.*, 2006；Staaf *et al.*, 2010）。その２カ所のどちらかに変異があれば，ダイレクトシーケンスでは，正確な塩基配列が得られないことになる。本研究で調べたアカイカでも，シーケンス分析で得られたフェログラムで綺麗な波形が得られず，mtDNAにCOI領域が２箇所存在することが推測される。そのため，本報告では集団解析にCOI領域を用いなかった。

頭足類では，魚類の集団解析で用いられる約1,000bpの長さのD-Loop領域のような領域がなく，スルメイカ（Akasaki *et al.*, 2006）やアメリカオオアカイカ（Staaf *et al.*, 2010）では短いnon-coding領域もほとんどない。そのため，本報告ではmtDNAに重複のない領域において新たに集団解析用にマーカーを作成した。本研究で分析したND１～16S rRNA領域は，PCR法で再現

Table 2. Distribution of haplotypes in eight sampling locations and variable nucleotide sites of haplotypes for neon flying squid

| Haplotype | Sampling Site | | | | | | | | Variable nucleotide sites in ND1-16S rRNA gene region (5'-3') | | | | | | | |

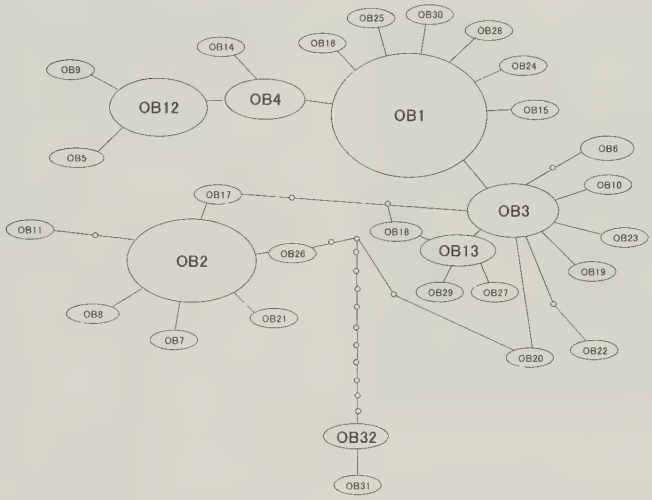


Fig. 11. Minimum spanning tree showing the genetic relationship in neon flying squid. Size of circles roughly represents haplotype abundance. Open dots on the lines joining haplotypes indicate intermediate haplotypes not found in this study. The marks in each circle represent the haplotype name.

Table 3. Pairwise F_{ST} estimates (below diagonal) and probabilities of Fisher's exact test (above diagonal) for population differentiation in neon flying squid base on the nucleotide sequence analysis of mtDNA ND 1 -16SrRNA

	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	St. 5	St. 6	St. 7	St. 8
St. 1		0.150	0.326	0.121	0.192	0.265	0.028	0.000**
St. 2	-0.016		0.198	0.417	0.662	0.696	0.439	0.000**
St. 3	-0.039	-0.055		0.044	0.226	0.236	0.109	0.000**
St. 4	0.098	0.055	0.036		0.595	0.553	0.274	0.000**
St. 5	-0.004	-0.019	-0.031	0.033		0.458	0.188	0.000**
St. 6	-0.004	-0.013	-0.023	0.028	-0.021		0.229	0.000**
St. 7	0.048	0.012	-0.008	-0.027	0.006	0.006		0.000**
St. 8	0.846**	0.873**	0.869**	0.842**	0.834**	0.850**	0.820**	

*significant at $P<0.05$ after Bonferroni correction

**significant at $P<0.01$

Table 4. Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of mtDNA ND1-16SrRNA gene regions in neon flying squid from the North Pacific Ocean for the number of St., see **Table 1** and **Fig. 10**

Region groupings	φ_{CT}	Percentage variance among groups
(St. 1, St. 2, St. 3, St. 4, St. 5, St. 6) VS (St. 7)	0.00517	0.52
(St. 1, St. 2, St. 3, St. 4, St. 5) VS (St. 6, St. 7)	-0.00168	-0.17
(St. 1, St. 2, St. 3, St. 4) VS (St. 5, St. 6, St. 7)	-0.00288	-0.29
(St. 1, St. 2, St. 3, St. 5) VS (St. 4, St. 6, St. 7)	0.00495	0.5
(St. 1, St. 2, St. 3, St. 5, St. 6) VS (St. 4, St. 7)	0.00894	0.89
(St. 1, St. 2, St. 3) VS (St. 4, St. 5, St. 6, St. 7)	0.00484	0.48
(St. 1, St. 2) VS (St. 3, St. 4, St. 5, St. 6, St. 7)	-0.00184	-0.18
(St. 1) VS (St. 2, St. 3,St. 4, St. 5, St. 6, St. 7)	0.01366	1.37

Fig. 12. NJ tree of neon flying squid samples based on nucleotide sequence data of mtDNA ND1-16S rRNA region. St. 1 to St. 7 are in the North Pacific, and St. 8 in the Indian Ocean. See text for detail

性よく増幅し，容易に塩基配列も決定することができた。D-Loop領域と比べると変異性は低かったが，一般的に報告されている16S rRNA領域の変異性と比較すると（松井・小池，2003），今回出現したハプロタイプ数は32個と多く，またハプロタイプと塩基多様度も高かった。このことから，海域間の遺伝的な変異性を比較できるものと考えられた。

インド洋と北太平洋の集団を比較すると，出現ハプロタイプは異なり，平均塩基置換数は約15であった。ハプロタイプ出現頻度から，インド洋の集団は北太平洋集団に比べ，有意に遺伝的に異なっていた。インド洋のアカイカはインド洋のマダカスカル島周辺に広く分布している（奥谷，1995）。また，北半球と南半球におけるアカイカの分布は連続していないので（奥谷，1995），遺伝的に隔離されていることが推測される。南インド洋には，西流する南赤道海流，マダカスカル島付近には南赤道海流から分岐したモザンビーク海流とその続流であるアグリアス海流がアフリカとマダガスカルの間を南へ流れ（Shotton，2006），その南では東へ流れる南極周極流があり，オーストラリアの南端には北向きに流れる海流があって，オーストラリアの北側には西向きに流れる海流がある。このように，インド洋には反時計回りに循環する南インド洋海流があり（平，1997），南インド洋のアカイカ集団は環流によって他の海域の集団と遺伝的に独立している可能性が考えられた。

一方，北太平洋におけるアカイカは20°-40°N付近の東西に広く分布しているが（奥谷，1995；酒井，2010），産卵場や稚仔などの分布の違いから小笠原近辺とハワイ周辺の集団に分かれる（谷津ら，1998）。また，それぞれの集団は孵化時期が秋と冬春に分かれるため，秋生まれ群と冬春生まれ群の計4集団に分かれると報告されている（谷津ら，1998；村田・中村，1998）。しかし，本研究によれば，F_{ST}値，Exact testでも海域間に差はなかった。海域を東から順に，北から順にという具合に大きな様々な集団を仮定して集団解析を行った結果（Table 4），集団間に有意な差異が認められなかった。北側の集団は外套背長が30cm以上の大型の個体が多く，調査時期とその外套背長から秋生まれと推測された。そこで，外套背長30cm以上を秋生まれ群，30cm未満を冬春生まれ群と分けて（Murata and Hayase,1993），それぞれが独立しているか検討したところ，有意差は検出できなかった（Table 3）。これらの結果から，北太平洋に分布するアカイカは，一つの大きな集団である可能性が考えられた。ただし，今回のデータについては，秋生まれと冬春生まれを外套背長で簡易に分けただけであり，耳石の日周輪を用いて詳細な生まれた時期を組み合わせることによって，秋生まれと冬春生まれとの遺伝的な差が検出される可能性もあり，今後の課題である。

本章では北太平洋のアカイカ資源の管理方策について検討するために，詳細な資源構造を把握した。これらの知見をもとに，資源の適切な漁業管理を行うには，北太平洋のイカ釣り操業過程の実際を理解し説明する必要がある。アカイカ釣り漁業は，操業現場で多発する釣り落とし現象，すなわち脱落が多発するため釣獲向上の低下を招いている。次章では，脱落現象の発生要因を解明するために釣獲過程におけるアカイカの触腕破断機構を明らかにした。

第Ⅲ章　釣獲過程におけるアカイカの触腕破断機構

3.1　緒　　言

第Ⅱ章では，北太平洋のアカイカ資源の管理方策について検討するために，詳細な資源構造を把握した。これらの知見をもとに，資源の適切な漁業管理を行うには，北太平洋のイカ釣り操業の釣獲過程の実際を理解する必要がある。アカイカ釣り漁業では，イカ釣機で釣り上げられる際に触腕が切断され脱落することが多く（上野・酒井，2010），釣獲向上の低下を招いている。イカ釣り漁業の収益性を改善するためには，釣獲過程の獲り逃がしを最少化する必要がある。これまで獲り逃がしの最小化を図るため，針笠の形状や大きさを改良した新しい針笠を開発した報告（Guo *et al.*, 1997；Yada *et al.*, 1997）もあるが，実用には至っていない。

本研究では釣獲されたアカイカの針掛かり状態を観察して，アカイカが釣獲されるまでの過程と脱落に至

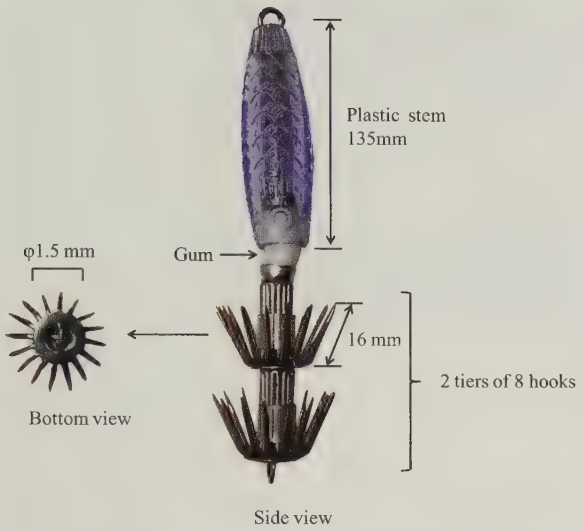


Fig. 13. Neon flying squid jig.

Fig. 14. a. A photograph showing the elongation of the tentacle above the surface. b. The remaining tentacles left on the rack as an indication of the breakage point.

る過程を推定し，アカイカの触腕破断機構を調べた。同時に脱落現象の発生要因を特定するために触腕破断強度を測定し，これらを総合して釣獲過程におけるアカイカの触腕破断機構を明らかにした。

3.2　材料と方法

2006年６月６日～９月30日の間，中・西部北太平洋海域（40°～46° N，150° E～170° W）において，（独）水産総合研究センターが用船した第八白嶺丸（276GT，56mLOA）で実施した。第八白嶺丸では，船首から船尾にかけて右舷22台，左舷21台の自動イカ釣機MY-10（株式会社 東和電機製作所）を配置していた。

各釣機は，15個の擬餌針を取付けた釣具ラインを繰り出し・巻上げるための八角ドラムが両舷に２個ずつ備わっている。ただし，アカイカの個体重量が５kg前後となり，釣具ラインが近いとラインが互いに絡まりやすくなるため，調査操業には船首側のドラム一機のみを使用した。針掛かりしたアカイカは，受け台先端のガイドローラーを経由して，八角ドラムの回転によって巻上げられる。この調査操業に使用した擬餌針は，ムラサキベーク組立針（台和漁具製；CM-21）である（Fig. 13）。イカ釣機の巻上げ回転数は毎分65回転とした。

3.2.1　釣獲と脱落状況の観察

釣獲と脱落状況の観察は，2006年６月23日～９月25日の間，右舷側の22台の釣機を対象とし，日没30分後から２時間行った。観察回数は計36回（72時間）であった。擬餌針の巻上げ過程の観測結果から，アカイカの脱落現象を以下の３パターンに分類した。擬餌針に触腕のみが掛かって巻上げられてきたものを「水中脱落」，海面から出てガイドローラーに触れる前に脱落したものを「水上脱落」，アカイカがガイドローラーに接触した際の脱落を「接触脱落」とした。これらの脱落状態を観察し，記録した。Fig. 14aは，針掛かりしたアカイカの触腕が伸長して，水上で破断する直前である。Fig. 14bに示されているように，受け台に残った触腕の破断箇所を特定するため注意深く観察すると，ほとんどが口部近くの触腕基部であった。Fig. 15aでは，失われた２本の触腕の破断箇所が示されており，Fig. 15bでは触腕先端の再生部分を示している。

3.2.2　体サイズと脱落率

脱落と体サイズの関係を把握するため，釣獲されたアカイカの外套背長（*ML*）と体重（*BW*）を測定した。次に釣獲個体と脱落個体の触腕をサンプリングし，触腕掌部長（*TCL*）を測定した。Fig. 16に示したように，触腕掌部基部の最初の吸盤位置から触腕掌部先端部までを触腕掌部長とした（Roper and Voss, 1983）。釣獲したアカイカの*ML*と*TCL*の関係から，脱落して触腕のみが釣られた個体の*ML*を推定し，体サイズと脱落率との関係を求めた。

脱落個体の総数については，一定時間内に船上に揚がった水中脱落個体の触腕を回収し，*TCL*を測定した。釣獲個体については，脱落個体測定時に釣獲されたもののうち，60個体の*TCL*および*ML*を測定した。

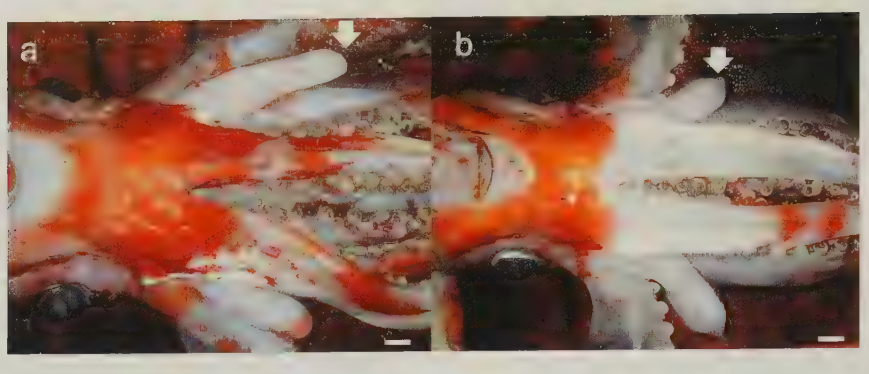


Fig. 15. a. An indication of the breakage points at the proximal end of tentacles for squid having lost 2 tentacles. b. Squid with the regenerating patterns at the tip of the remaining parts of tentacles. The scale bar indicates 1 cm.

釣獲個体2,897個体の外套背長と触腕掌部長を測定し，その関係を求めて，脱落したアカイカの触腕掌部長から外套背長を推定した。なお，死後の筋肉収縮による測定誤差を避けるため，脱落個体，釣獲個体いずれの触腕も船上に揚がった時点から30分間放置して測定した。触腕は測定条件を同じくするため，放置にあたり釣獲個体の胴体部から予め切離した。

アカイカの*ML*と脱落率との関係を推定するため，釣獲したか脱落したかに着目した２項分布を仮定し，*ML*と脱落率（%）との関係についてロジスティック式（Dobson and Barnett, 2008）に当てはめた。擬餌針に針掛かりしたアカイカの総数をN，脱落率の割合をpとし，次式で表わした。

$$p=\left(\frac{n}{N}\right) \tag{1}$$

ここでnは擬餌針に残った触腕から判断した脱落個体総数である。ロジスティック式曲線のαとβのパラメータは，TCL（l）ごとに表わされる。

$$p=\left\{\frac{1}{1+\exp(\alpha+\beta\times l)}\right\} \tag{2}$$

針掛かりしたN個体のうち，n個体が脱落し，N-n個体が釣獲されたときの対数尤度（ln$L$）は次式で示される。

$$\ln L=\Sigma\{\ln(N!)-\ln(n!)-\ln[(N-n)!]+n\ln(\hat{p})+(N-n)\ln(1-\hat{p})\} \tag{3}$$

この値を最大にするパラメータを求めた。最大化にはMS-EXCELソルバーを用いた（東海，1997）。漁具の選択性を示すロジスティク式においては，その特性を示す指標として50%選択体長（L_{50}）や選択レンジが用いられる（Wileman *et al.*, 1996）。この解析方法にならって，針掛かりしたアカイカの総数のうち半数が脱落する触腕掌部長を50%脱落率（F_{50}）と呼び，ロジスティク式パラメータαとβを用いて次のように求めることができる（Sparre *et al.*, 1993）。

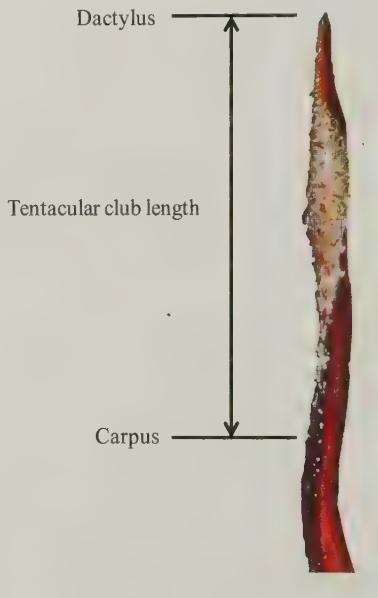


Fig. 16. A tentacular club of a neon flying squid.

$$F_{50}=-\frac{\alpha}{\beta} \tag{4}$$

次に，釣獲したアカイカから求めた線形回帰分析によってTCLをMLに換算した。

なお，モデルの適合性については，フルモデルの対数尤度からロジスティックモデルの対数尤度を引いた差（逸脱度）を２倍したものを用いた。ロジスティク式曲線から得られる脱落率が，フルモデルで最尤推定された体サイズごとに推定した脱落率と差がないことを示すことで，仮定した曲線が適合していることを示した（Dobson and Barnett, 2008；東海，2009）。

3.2.3　触腕破断強度の測定

Chen（1996）とChen *et al.*（2008）の方法を参考に，手秤（三光精衡所）に擬餌針を取り付けて触腕破断強度を測定した。アカイカのBW 1 kg未満には1 kgの手秤，BW 5 kg未満には5 kgの手秤，BW 5 kg以上には10kgの手秤をそれぞれ用いた。釣獲直後のアカイカについて一個体ずつ体重を測定し，その後水平に寝かせて外套部を固定し，触腕掌部中央に擬餌針の針笠をかけて，約2.0～2.5 cm/secの速度で引っ張り，触腕が破断した時点の荷重を記録した（Fig. 17）。なお，調査期間中に左右の触腕は，1日に30～50個体測定し，触腕1本については合計1,776個体（左885個体，右891個体），触腕2本については合計871個体の破断強度を測定した。

破断強度（S）は触腕の断面積に関係し，MLの2乗に比例すると仮定して，（5）式のように示した。

$$S \propto ML^2 \quad (5)$$

この場合BWはMLの3乗に比例するものと仮定すると，

$$BW \propto ML^3 \quad (6)$$

破断強度（S）は次式で示される。

$$S = k \times BW^{0.67} \quad (7)$$

触腕破断はBWの重さと関連しており（Guo *et al.*, 1997），この式を適用した。

まず脱落したアカイカのBWを求めるには，サンプリングした触腕からMLを推定し，その値を用いて甲谷ら（1997）の$BW = 4 \times 10^{-5} ML^{2.9482}$に代入して求めた。さらに，推定した$BW$の値を用いて（7）式に代入して触腕1本と2本の場合の破断強度を求め，MLとSの関係についても検証した。

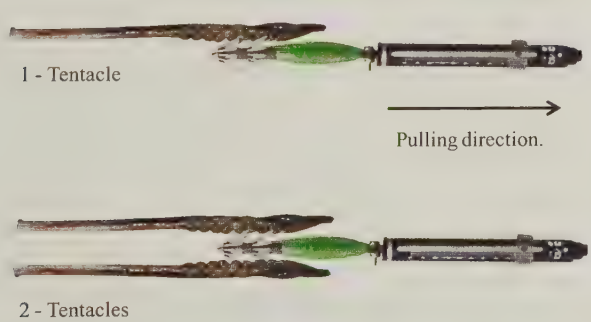


Fig. 17. The measurement of the breaking strength of tentacle (s) by fixing the mantle position and pulling with a spring-scale attached to the jig stalk until the tentacle was torn off from the base.

3.3　結　　果

3.3.1　釣獲と脱落状況の観察

釣獲過程における釣獲・脱落状態の観察は針掛かり状態をFig. 18の（a）触腕，（b）触腕以外の他腕（1～2本），（c）他腕の3腕以上，（d）口器周辺の4つに分類し，その結果をFig. 19にまとめた。Fig. 19によると，観測期間の釣獲総数は1,720個体，脱落総数は950個体で，総針掛かり数は2,670個体と推定され，このうち脱落率は35.6％であった。さらにこの脱落を状況別に3つに分類すると，水中脱落は838個体（総針掛かり数のうち31.4％），水上脱落は71個体（総針掛かり数のうち2.66％），接触脱落は41個体（総針掛かり数のうち1.54％）であった。

水中脱落は，擬餌針の針笠に触腕が掛かって揚がってきたもので，水上脱落と接触脱落では触腕以外の他腕での針掛かりは少なく，そのほとんどが触腕での針掛かりであった。釣獲された1,618個体のアカイカは触腕以外で針掛かりしており，触腕での針掛かりはほとんど観察されなかった。これは，釣獲過程で起こる水中の触腕破断が脱落の主因であることを意味する。

Table 5には，釣獲個体のMLとTCLから推定した脱落個体の外套背長を示した。3腕以上で釣獲された個体は触腕で針掛かりした個体に比べ外套背長が有意に大きかった（Table 5；$p<0.05$, peritzの方法）。また，小型サイズでは触腕で擬餌針を捕捉する傾向にあった。

3.3.2　体サイズと脱落率

Fig. 20には，釣獲個体と脱落個体のTCLの頻度分布を示した。釣獲個体，脱落個体のTCLの値について，式（2）を適用して脱落率を算出した。釣獲個体のTCLは脱落個体よりも大きく，このことは小型サイズが大型サイズよりも擬餌針から脱落する傾向を示

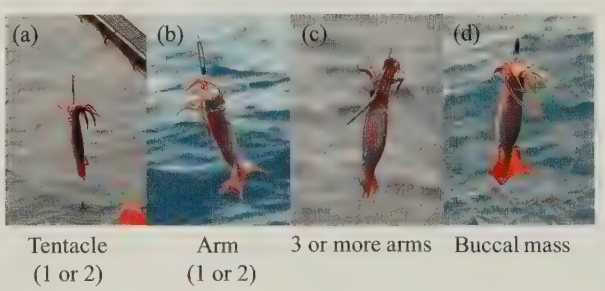


Fig. 18. Hooking patterns of different hooked position of neon flying squid.

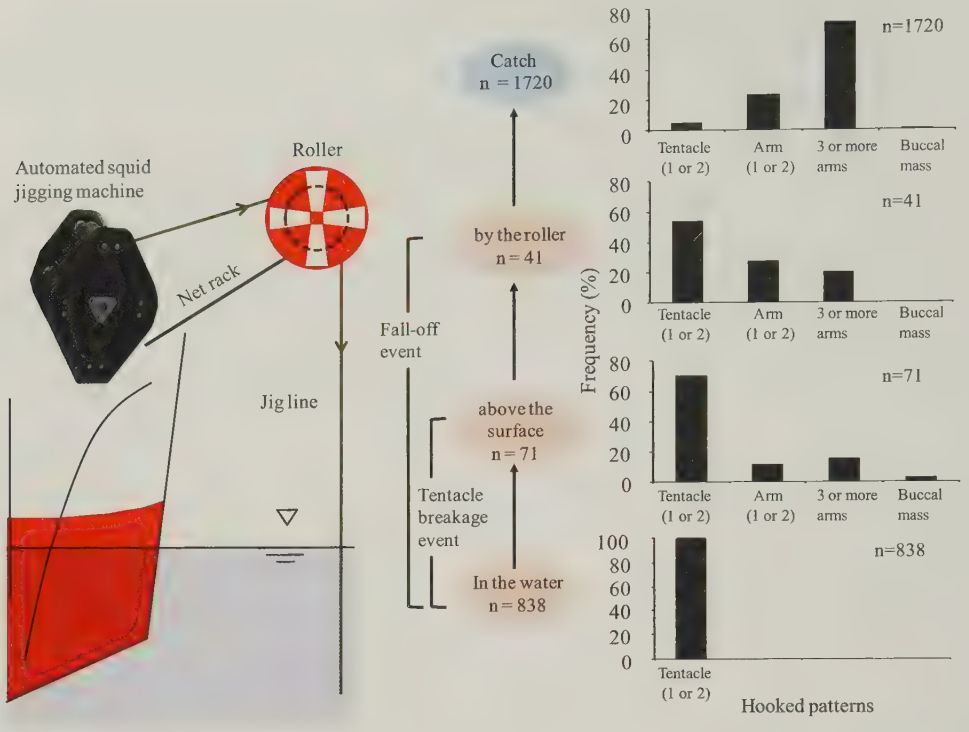


Fig. 19. Hooking patterns of neon flying squid according to the catch and fall-off events.

Table 5. Size range of captured and fallen-off squid according to the hooked patterns

Hooked pattern	Situation	Mantle Length ±SD (cm)	n
3 or more arms	Captured	36.8 ±6.6 [a]	33
Tentacle	Captured	28.4 ±4.4 [b]	4
Tentacle	Fell-off	28.3 ±5.3 [b]	4

Different superscript letters indicate a significant difference (Peritz's method; $p<0.05$).

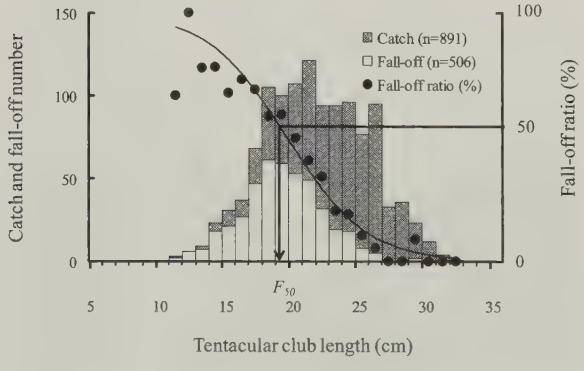


Fig. 20. The fall-off ratio according to the mantle length, indicating an F_{50} of 37.4cm.

している。*TCL*に応じた脱落率のロジスティック式曲線は次のように求められた。

$$p=\left\{\frac{1}{1+\exp((-6.517)+0.337\times l)}\right\} \quad (8)$$

Fig. 20に示すように，パラメータα，βを式（4）に代入するとF_{50}は19.3cmとなった。

釣獲個体と脱落個体の体サイズを比較するため，脱落個体の体サイズを*TCL*から推定した。*TCL*と*ML*の関係は釣獲個体のデータから求め（Fig. 21），次の式で示される。

$$ML=1.09TCL+16.3 \quad r=0.76 \quad (9)$$

擬餌針に針掛かりしたアカイカのうち半数が脱落するサイズは，*ML*37.4cmと推定された。尤度比検定の結果，フルモデルとロジスティックモデルには有意差が見られなかった（$p > 0.05$；逸脱度＝27.4，自由度＝35，$p=0.82$）ため，このロジスティックモデルは適合しているといえる。

3.3.3 触腕破断強度の測定

触腕破断強度の測定時には，触腕が引っ張られたときの破断発生位置も観察した。その結果，触腕の吸盤が分布する位置では破断することなく触腕の基部で破

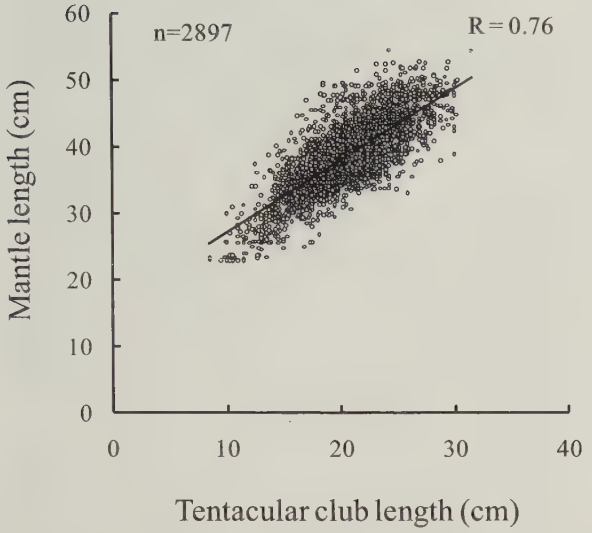


Fig. 21. The mantle length according to the tentacular club length.

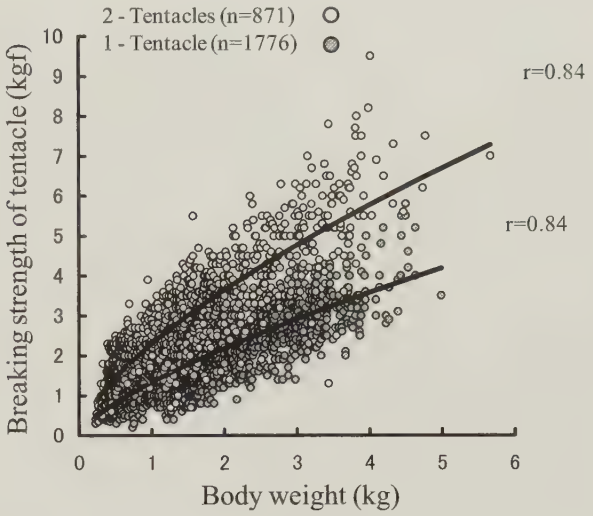


Fig. 22. The breaking strength of tentacle (s) according to body weight in air.

断した。また，擬餌針の針笠に掛かって残っていた触腕からもほぼ同部位で発生していることが確認された。触腕破断強度は触腕１本に対して0.2～5.8kgf，触腕２本に対して0.5～9.5kgfの範囲であった。触腕破断強度とBWとの関係をFig. 22に示した。BWに対する触腕１本の破断強度の回帰分析に基づき，破断強度はほぼ自重に等しいことが確認された。式（7）をもとに適用し，触腕破断強度を求めると触腕１本の場合は$S=1.38\times BW^{0.67}$（$r=0.84$），触腕２本の場合は$S=2.29\times BW^{0.67}$（$r=0.84$）となった。

甲谷ら（1997）の式より，MLに対するBWの曲線を導き，これとMLに対する触腕破断強度を比較してFig. 23に示した。このFig. 23より，触腕１本の場合，破断強度は$S=1.29\times10^{-3}ML^{2.0}$（kgf），触腕２本の場合は，$S=1.81\times10^{-3}ML^{2.0}$（kgf）であった。触腕１本の場合$ML$41.4cm，触腕２本の場合$ML$57.7cm以上になると自重が破断強度よりも重くなるため，触腕が破断しやすくなる傾向が示された。しかし，触腕１本の破断強度はML41.4cm以下でも，自重とほぼ同程度であったことから，F_{50}よりも小型のアカイカで触腕破断の可能性が残る結果であった。

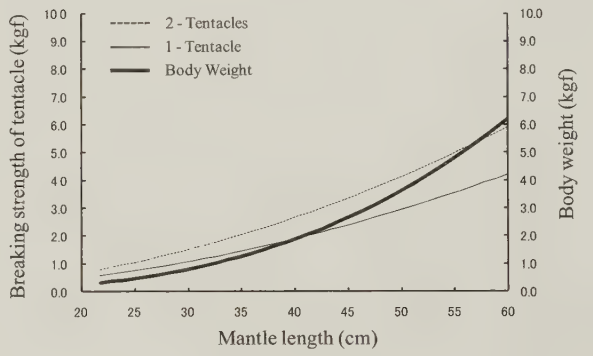


Fig. 23. A comparison of tentacle breaking strength and body weight in air according to the mantle length.

3.4 考　察

イカ釣り漁船のアカイカ釣り漁業は35° N～45° N,170° E以東の北太平洋で操業され，５月中旬から７月下旬までML35cm以上の秋生まれ群とML35cm未満の冬春生まれ群を対象としている（Ichii *et al.*, 2004；Murata, 1990）。2007年の第二吉丸の調査操業（山下ら，2008b）では，釣獲アカイカのサイズ組成のモードは５月でML36cm（26～46 cm），６月でML36cm（21～49 cm），７月でML38cm（24～50cm）であった。

本稿の結果では，ML37.4cmよりも小型サイズのアカイカは半数が触腕破断を起こし脱落することから，秋生まれ群の脱落率を低減することが本漁業にとって重要であることを示している。

触腕破断は水上やガイドローラーの位置でも起こるが，その主たるものは水中で起こっていた。触腕の破断強度は体サイズと関係があり，大型サイズほど強度が大きく，触腕１本でML41.4cm以上，触腕２本でML57.7cm以上の体重は触腕の破断強度を上回ることがわかった。一方で，Table 5に示すように，触腕による針掛かりでなく，３腕以上で針掛かりした大型サイズの場合には脱落せずに，高い釣獲割合を示している。Chen（1996），Chen *et al.*（2008）は，アカイカ

の触腕以外の他腕の破断強度は触腕の2～3倍あることを報告しており，触腕以外の他腕で針掛かりした場合に釣獲割合が高いという今回の結果と一致する。釣具ラインの巻上げ過程における触腕破断は，上昇する釣具の動きに対して針掛かりしたアカイカが逃避行動を起こす動的な動きによって生じる可能性が高い。本研究における触腕破断強度の測定は，静的負荷の増大によるもので，逃避行動のような活発な動きは再現しておらず，おそらく触腕に対する破断荷重としては過小評価していることが考えられる。釣獲過程における水中の触腕破断は，おもに上昇する釣具の動きとイカの漏斗からの海水吐出推進力をともなう逃避行動（Thompson and Kier, 2002）で，触腕が引っ張られて極端に伸長することによって起こるものと推測される。

この結果は触腕で針掛かりしたアカイカが水中でほとんど脱落し，反対に接触脱落や水上脱落の観察数が少ないことと対応している。アカイカは針掛かり後の逃避行動の際に，外套膜を収縮させた吐出推進力によって，触腕破断の可能性を高くしていることも考えられる。

Kier and van Leeuwen（1997）は，アメリカケンサキイカ*Loligo pealei*が餌生物を捕捉する際の触腕の動きについてハイスピードカメラによって解析し，触腕を繰出した際に吸盤を使ったか，掌部が餌生物と接触した際に触腕を繰出したかを調べた。さらに，Kier *et al.*（1997）はアメリカケンサキイカが餌生物を捕捉したときの一連の動きも観察した。その結果，触腕が餌生物を捕捉するときのみに使用されることを特定した。また，本種はまず触腕で餌生物を捕捉し，その後に触腕以外の他腕で抱え込むことを確認し，この一連の動きが釣具ラインの巻上げ過程で行われることを確認した。

前述でも示したように，釣具ラインの巻上げ過程で針掛かりしたイカは擬餌針を触腕捕捉した後に，異変を察知して逃避行動をとる。大型になるアカイカの場合，針笠に触腕が掛かった状態が観察されているので，巻上げ過程までのイカ自体の流体抵抗が大きく，これに逃避行動が加わることで触腕破断の原因となっていると推測される。

Fig. 20の釣獲個体と脱落個体の体サイズの関係から，小型サイズのアカイカほど触腕の破断強度（Fig. 21）は小さくなり，触腕破断を起こして脱落する傾向にあることを示している。他方，Fig. 22の*BW*と触腕破断強度の比較は，*ML*に基づいており，触腕1本で擬餌針に掛かった場合，*ML*41.4cm以上のときに空中で自重を支えることができず，またこれ以下の小型サイズの場合でも触腕破断強度は*BW*とほぼ同程度であり，触腕破断の可能性は残る。軟体類は防御メカニズムとして触腕あるいは1腕以上を自切することがある。同様に甲殻類の爪や爬虫類の尾も自割することが知られている（Fleming *et al.*, 2007）。また，アミダコ*Ocythoe tuberculata*は交接の際にオスの交接腕の先端を自切して，メスの体内に残存し，栓のような役割を持つものがある（Okutani, 1990）。釣具ラインの巻上げ過程におけるアカイカの触腕破断は，機械的に引っ張られた切断であり，自切とは異なるものである。しかし，この破断は触腕が切断されることで，より致命的な状況から逃れるための防御戦略として効果的に働いていることが考えられる。触腕破断による獲り逃がしを最小限にするための方策は，触腕ではなく他腕による針掛かりの頻度を高めることにある。

Table 5に示したように，触腕以外の他腕で針掛かりした釣獲個体は触腕で針掛かりした釣獲個体及び脱落個体よりも大型であった。この結果は，イカはまず触腕で餌生物を捕捉し，その後触腕以外の他腕で餌生物を抱え込む（Kier and Leeuwen, 1997）ときの捕捉行動と関連するものと考えられる。漏斗からの強い海水吐出推進力で触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込んだアカイカは，触腕破断の可能性が軽減する。このことから吐出推進力，すなわち遊泳能力が釣獲にむすびつく重要な手掛かりとなる。大型サイズはこの推進力が大きいため，上昇する釣具ラインの擬餌針を触腕で捕捉した後に，触腕以外の他腕で抱え込むものと考えられる（Bartol *et al.*, 2001a; Bartol *et al.*, 2001b; Webber and O' Dor, 1986）。

触腕破断が引き起こす獲り逃がしを最小化するためには，他腕によって擬餌針捕捉をさせることが重要であると示唆された。このことについて水産庁の調査報告（水産庁，1996）では釣機の位置によって脱落率が異なり，それが海況の影響受けた船体運動によるものであると報告している。次章ではこの結果の再現性を確認するとともに，もう一つのアプローチとして，イカ釣機の巻上げ回転数を制御することで他腕の針掛かりを増やす方法について検討する。

第Ⅳ章　アカイカ釣りにおける釣り落としと船体運動との関係

4.1 緒　言

第Ⅲ章では脱落現象の発生要因である触腕破断の機構を解明した。脱落現象の発生要因については，水産庁の調査（水産庁，1996）により，凪と荒天で脱落率

の傾向が異なり，ビューフォート風力階級に基づく風力５，風浪階級４以上の荒天の場合に船首船尾の釣機で脱落率が高かったことから，船体運動との関係が示唆されている。しかし，その観察回数は少なく，再現性も確認されていない。

本研究は，船体運動が脱落に及ぼす影響について，より具体的に把握するため，船体運動の指標として，ピッチングの影響を受けると考えられる釣機の位置に加えて，ローリングの影響を受けると考えられる受け台の長短に着目し，ロジスティック回帰分析を行った。

4.2 材料と方法

2003～2005年に，（独）水産総合研究センター開発調査部（現開発調査センター）が実施した，イカ釣り調査（牟田ら，2005；山下，2005；黒坂，2005）において，アカイカの脱落現象に関する情報を収集した。調査には大型いか釣り漁船第八白嶺丸（276GT, 56mLOA）を使用した。一般に大・中型イカ釣り漁船は，両舷の船首から船尾にかけて自動イカ釣機を配置し，それぞれの釣機の下にはナガシと呼ばれる受け台を舷外に向けて設置している。釣糸は，受け台先端のガイドローラーを経由して海中に降ろされる。自動イカ釣機MY-10（東和電機製作所）を船首から船尾にかけて順に１～22号機として設置した。第八白嶺丸の釣機の配置をFig. 24に示した。

左舷側の４号機の位置には釣機の代わりに観測機器用のラインホーラーを設置したため，釣機台数は右舷22台，左舷21台であった。ロジスティック回帰分析に当たっては，隣接する釣機２台をまとめて１水準として取り扱い，船首から船尾にかけて釣機群Ⅰ（１，２号機）からⅪ（21, 22号機）までの計11水準と定義した。また，2005年の調査においては７号機と９号機は，別途脱落防止仕様針の実験を実施したため（黒坂，2005），除外した。受け台は長短２種類を使用し，奇数号機には短い受け台，偶数号機には長い受け台を設置した。受け台の長さは，長い受け台が4.50m（22号機のみ3.36m），短い受け台が1.83mであった。釣機に設置する釣具は道糸ワイヤー（ϕ1.6mm）の下にテグスを連結させ，ジャンボ６型釣針（針径1.6mm ６本立て×２段）を１m間隔で15個付け（テグスの構成は上から擬餌針６本は120号，中間の擬餌針６本は100号，下の擬餌針３本は80号，最下針と錘の間は50号のテグスを約3.75m），その下に鉄製600匁（2.25kg）の錘を取り付けた。釣具は，各釣機の両側に付属する巻取りドラムのうち船首側のみに取り付けた。

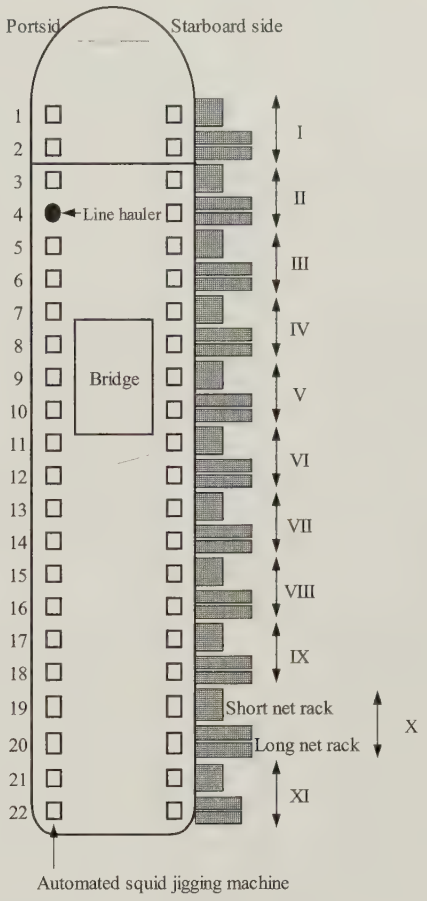


Fig. 24. Allocation of the automated squid jigging machines and the net rack on the jigging vessel, Hakurei Maru No.8. Arabic numerals indicate identification numbers of the jigging machines. Roman numerals show the machine groups as the levels of explanatory variables of the machine positions.

4.2.1 船体位置による釣獲・脱落状況の観測

それぞれの釣機において，釣獲したイカと脱落したイカの数を計数した。観測は１回約２時間で，主たる時間帯を，過去の調査結果（水産庁，1996；小河，2002；小河，2003；宮川，2004）から最も釣獲が多いと判断される日没前後とし，夜間にも適宜行った。脱落個体は，水面上で脱落する様子を目視確認した個体および，触腕が針に残った個体とした。針に残った触腕が水面に達する前に外れることも起こり得るが，これは確認する方法がなく，ここでは無視した。また，当観測時のビューフォート風力階級（以下，風力という）を記録した。

4.2.2 脱落率と船体運動

当該結果の統計学的有意性を検討するため，針に掛かったイカが釣獲されるか脱落するかを二項分布と仮定して，ロジスティック回帰分析を行った。説明変数は，釣機群，即ち釣機の船首船尾間の設置位置（以下，位置），受け台の長短，舷の左右（舷），調査年（年），風力によって区分した凪と荒天（風力）の5因子とした。すべての説明変数は，質的変数として，各水準が0または1をとるダミー変数（Dobson, 1993）を用い，第1番目の水準を規準とした。即ち，第1番目の水準のダミー変数は常に0，その他の水準では，該当する水準のダミーを1，それ以外の水準のダミーを0として，各係数を推定した。従属変数は釣獲を1，脱落を0とした。各説明変数を含むモデルと含まないモデルを仮定し，赤池の情報量規準（AIC）を用いて最適モデルを選択した。

釣獲率（釣獲個体数/釣獲個体数＋脱落個体数）pは次のモデルで表される。

$$p=\left\{\frac{1}{1+\exp[-(\lambda)]}\right\} \tag{10}$$

$$\lambda=a+\alpha+\beta+\gamma+\delta+\varepsilon \tag{11}$$

ここで，λはpのロジットで，α，β，γ，δ，εはそれぞれ位置，受け台，舷，年，風力の効果を，aは切片を表す。調査年yの風力wの時に舷s，位置m，受け台cの釣機から投入された針を捕捉したn個体のイカのうち，j個体が釣獲され，n-j個体が脱落したときの最大対数尤度（MLL）は，次式で示される。

$$MLL=\sum_{y}\sum_{w}\sum_{s}\sum_{m}\sum_{c}\{\ln(n!)-\ln(j!)-\ln[(n-j)!] +j\ln(p)+(n-j)\ln(1-p)\} \tag{12}$$

次式（13）の赤池の情報量基準（AIC）によりモデル選択を行った。

$$\mathrm{AIC}=-2MLL+2k \tag{13}$$

ここで，MLLは（12）式で得られる最大対数尤度，kは自由パラメータ数である。

4.3 結　果

4.3.1 船体位置による釣獲・脱落状況の観測

2003, 2004, 2005年の釣獲と脱落の合計観測個体数はそれぞれ2,328, 6,852, 3,012個体であった。水産庁の調査（水産庁，1996）で釣機位置による脱落率の差異が認められた風力5を規準として，それ以上を荒天，風力4以下を凪とし，年，釣機群，受け台長短毎の脱落率を，凪と荒天の海況別にFig. 25に示した。凪と荒天で観測した個体数はそれぞれ11,159個体と1,033個体であった。凪では，釣機群は船体中央付近で脱落率が高く，船首船尾側ほど低かった。受け台は長い方が脱落率は低かった。荒天では凪ほど明瞭な傾向は見られずバラツキが多かった。

4.3.2 脱落率と船体運動

各モデルのAICをTable 6に，選択されたモデルの係数パラメータ推定値をTable 7にそれぞれ示した。AICにより最適と判断されたのは，釣機位置，受け台，年，風力の効果を含み，舷の効果を含まないモデルであった。選択されたモデルの，釣機位置の係数推定値は，Ⅴの係数が最も小さく，Ⅺを除き船首船尾ほど大きな値を示しており，船首船尾ほど脱落が少なかった。受け台に関しては，長い方の係数が正の値を示し，短い受け台に比べて長い受け台で脱落が少なかった。年については，年々大きな値となり，脱落が少なくなる傾向が見られた。風力は，凪に比べて荒天で負の値を示し脱落が多かった。

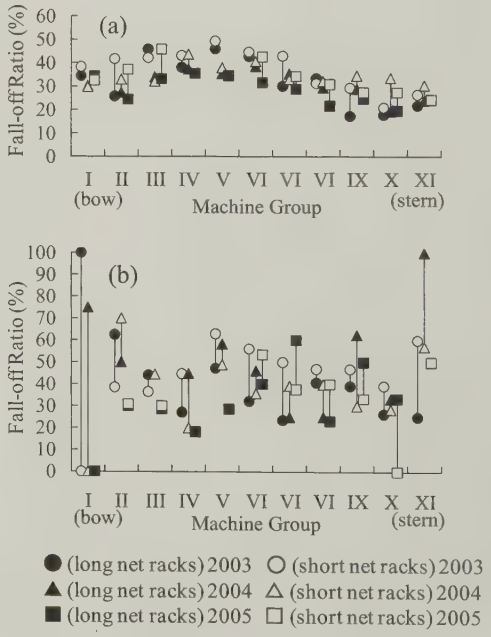


Fig. 25. The fall-off ratio of squid by the length class of the net rack and the machine group in each year. The fall-off ratio shows the percentage of the number of fall-offs to the total number of catches and fall-offs. (a) Wind scale of 4 or less (b) Wind scale of 5 or more.

4.4 考　察

上述の通り，釣機の位置が船首船尾に近いほど，即ちピッチングの影響が相対的に大きい位置ほど，凪の状態では脱落が有意に少なくなることが示唆された。また，受け台が長く，釣具の投入位置が舷側から張出して船体の中央から離れるほど，即ちローリングの影響が相対的に大きい位置ほど，脱落が有意に少なくなることが示唆された。

イカが触腕のみで擬餌針を捕捉した場合には，船体運動が激しい方が触腕の切断による脱落が起こり易いものと考えられる。船体運動が相対的に大きい位置の脱落率が相対的に低くなるという今回の結果は，脱落の発生はアカイカによる擬餌針の捕捉行動に大きく依存し，触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込んだ個体の脱落は，触腕のみで擬餌針を捕捉した個体に比べて低減される可能性，および，釣具が大きく運動することにより，触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む行動が促される可能性を示唆している。

窪寺（2004）は，水中カメラを用いたアカイカの摂餌行動の観察結果から，本種が，大型で活発な餌を捕らえる場合には，全腕を広げて前進し餌を抱き込むように捕獲する行動をとることを確認し，小型で遊泳力の低い餌生物と大型で活発な餌生物とでは，その捕獲方法が異なる可能性を報告している。釣具の運動が触腕以外の他腕で抱え込む行動を促すという前述の仮説は，この報告と一致するものと推察される。

他方，荒天の場合には凪の時にみられた様な明瞭な傾向はなく，船首船尾では脱落率が極端に高まる場合があった（Fig. 25）。水産庁の調査（水産庁，1996）でも荒天のときには船首船尾で脱落率が高い傾向が見られた。これらのことから，凪の海況では船首船尾や長い受け台の釣機で脱落率は低減されるが，荒天により運動が過大になると脱落が多くなるものと考えられる。このことの解明には，船体および釣具の運動を計測し，これと脱落との関係を把握するとともに，釣機の位置，受け台，海況などの諸要因が釣具の運動に及ぼす影響を明らかにする必要がある。この現象を解明するため，次章では加速度ロガーを使用して船体および釣具の運動を計測し，船体の運動が釣具に伝搬されているのかの検証を行った。

Table 6. AIC values for models of explaining the fall-off from jigs. The models were selected by using the backward step-wise selection method.

Deleted variable	AIC
none (full model)	15421
side (port or starboard)	15420*
year	15430
cradle	15447
wind	15428
position	15522
none(model without side)	15420*
year	15429
cradle	15445
wind	15427
position	15520

*: selected model

Table 7. The estimated parameters of the selected model of explaining the squid fall-off from jigs

Explanatory variable	Estimated parameter (SE)
intercept	0.566** (0.088)
position (relative to Ⅰ)	
Ⅱ	-0.071 (0.103)
Ⅲ	-0.252** (0.094)
Ⅳ	-0.336** (0.093)
Ⅴ	-0.374** (0.094)
Ⅵ	-0.370** (0.099)
Ⅶ	-0.133 (0.094)
Ⅷ	0.031 (0.095)
Ⅸ	0.057 (0.099)
Ⅹ	0.293** (0.105)
Ⅺ	0.205* (0.103)
net rack (relative to short)	
long	0.205** (0.039)
year (relative to 2003)	
2004	0.152** (0.053)
2005	0.215** (0.061)
wind scale (relative to 0 - 4)	
5 - 7	-0.214** (0.071)

**:p<0.01, *:p<0.05

第Ⅴ章　アカイカ釣り操業における釣具ラインの運動と船体運動検出の試み

5.1 緒　言

第Ⅳ章では脱落の発生要因を解明するにあたり，船上のイカ釣機の位置や天候の違いによって脱落率が異なることを報告しており，特に荒天時には，船体の運動が大きくなることで脱落が頻発するものと推察している。つまり，山下ら（2008）の推測では，荒天により大きくなった船体の運動が擬餌針に伝搬し，このことが脱落を招く原因の一つとなっていると考えられている。しかしながら，船体の運動が実際に釣具へ伝搬されているかの検証はこれまでになされていない。そこで本研究では，この現象を解明するため，加速度ロ

ガーを使用して船体および釣具の運動を計測し，船体の運動が釣具に伝搬されているのかの検証を行った。

5.2 材料と方法

調査は2007年８月18日に，北太平洋西部海域（45°N, 173°W）で第八白嶺丸（276GT, 56mLOA）にて実施した。右舷側の船首（２号機，３号機），中央（10号機，11号機），船尾部（19号機，20号機）の釣機（Fig. 26）から舷外に張り出した受け台先端のガイドローラー側面（船体）およびワイヤーとナイロン製の道糸の連結部（釣具）に，加速度データロガー（M380L-D２GT, Little Leonard Co. Ltd.,Tokyo, Japan, 以下，加速度ロガー）を装着した（Fig. 27a）。加速度ロガーは，２軸方向（長軸方向と短軸方向）の加速度を測定して記録することが可能である。釣具に取付けた加速度ロガーは，長軸方向が釣具ラインと並行になるように装着した。一方，船体に取付けた加速度ロガーは，静止時の船体に対して長軸方向が鉛直方向と一致するように装着した（Fig. 27b）。一般的にアカイカ釣り操業では，釣具ラインが八角ドラムから毎分70回転で繰出され，毎分65回転で巻上げられる仕様である。本研究では，操業の妨げにならないように釣獲がない時間帯（19：00～20：00）に測定した解析には釣具が設定水深150mから水面まで巻上げられるときの長軸方向の加速度記録のみ用いた。なお，設定水深は魚探に映るアカイカ群の釣獲層に釣具が到達するようにイカ釣機の深度を調整した。船体および釣具ラインにて記録される加速度信号の特性を調べるために，高速フーリエ変換（FFT）によるパワースペクトル密度（PSD）の計算を行った。PSD の計算には，IGOR PRO ver 6.12（Wave Metric, Inc., Lake Oswego, OR, USA）のPower Spectral Density 関数を用いた。

5.3 結　果

船体および釣具の加速度記録（Fig. 28）から計算されたPSDの結果をFig. 29に示した。長軸方向の加速度変化は，船首で船体が-0.18～0.33m/s^2，釣具が-0.27～0.35m/s^2，中央で船体が-0.12～0.31m/s^2，釣具が-0.17～0.33m/s^2，船尾で船体が-0.16～0.22m/s^2，釣具が-0.27～0.39m/s^{2}の範囲にあり，それぞれの位置で加速度はほぼ同調していることが明らかとなった。次にPSDを見ると，船体では船首部で0.156Hz,中央部および船尾部で0.125Hzの卓越周波数が検出された。他方，釣具は２峰型の周波数が検出され，船首部で0.156Hzと2.031Hz，中央部と船尾部はともに0.125Hzと2.063Hzが検出された。第八白嶺丸の完成図書には横揺れの周期が0.125～0.09Hzと明記されており，船体の固有周期であることがわかった。また，釣具からも同様の周波数が検出されたことから，船体の振動すなわち船体運動が釣具に伝搬していることが明らかとなった。一方で釣具のみ約２Hzの周波数が出現した。これは毎分65回転のイカ釣機ドラムの周波数1.08Hzの約２倍の値であり，ドラムの形状の影響が釣具ラインに伝搬した可能性が考えられる。

5.4 考　察

山下ら（2008）の報告によると，荒天時では船首と船尾で脱落率が極端に高まる場合もあったことから，船体の運動の影響がアカイカの脱落を誘発すると考えられる。Kurosaka *et al.*（2012）はアカイカの捕捉行動について，触腕で擬餌針を捕捉した後に触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込むと推察している。この船体

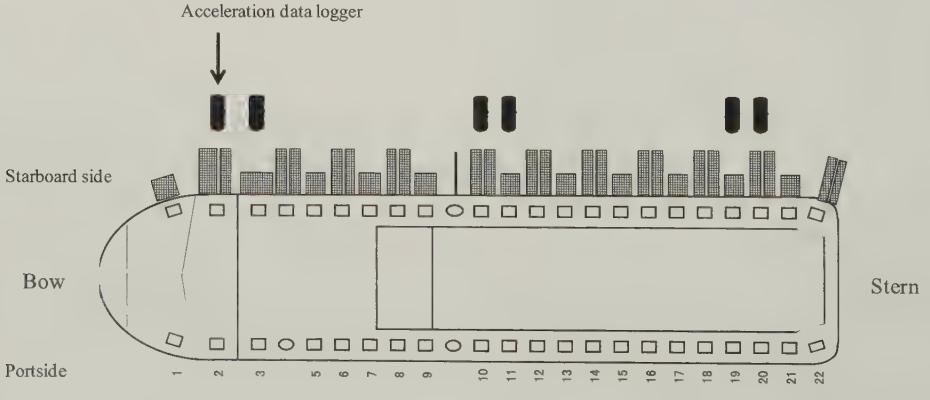


Fig. 26. Positions of the attachment of acceleration data-logger on the jigging vessel, Hakurei Maru No.8.

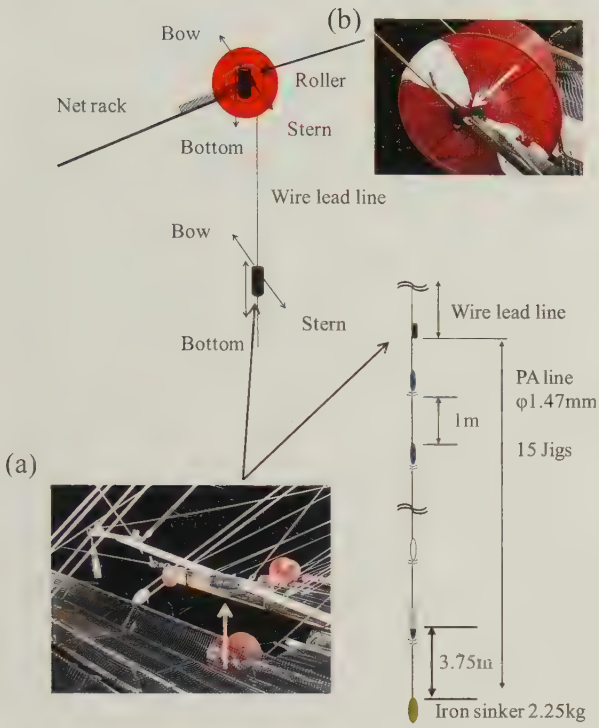


Fig. 27. Schematic diagram showing the attachment of acceleration data-logger to the wire line (a) and roller (b).

の運動はある閾値を超えることによって，伝搬した釣具ラインの上昇速度を速めることが考えられる。つまり，荒天時の船体運動が擬餌針に伝搬した場合，アカイカが擬餌針を捕捉しようと追いついても，瞬間的な釣具ラインの上昇速度よって触腕を伸ばしての捕捉しかできず，結果として巻上げ過程で触腕の破断が起こりやすくなったと考えられる。

一方で，山下ら（2008）は，ビューフォート風力階級に基づく風力４以下の凪時では，船体中央部の脱落が有意に高くなる傾向にあると報告している。船にはビルジキールという，横揺防止板が船体中央部の船底湾曲部両舷に付いており，横揺時にこの板の周りに渦が発生する（池田ら，1977）。この渦抵抗によって横揺減衰を大きくし，揺れが収まるようにしている（池田，2006；池田，2009）。つまり，船体中央部では横揺時に，意図的に渦が発生するように流れ場が設計されており，この流れ場は船首船尾に比べて乱れが大きい。このため，流れ場では海底方向に強い流れが発生し，触腕で針掛かりした個体は脱落が起こりやすいと考えられる。また，ピッチング（横揺）やローリング（縦揺）の影響が相対的に大きい釣具ほど脱落が有意に少なくなる傾向があり，これはアカイカの捕捉

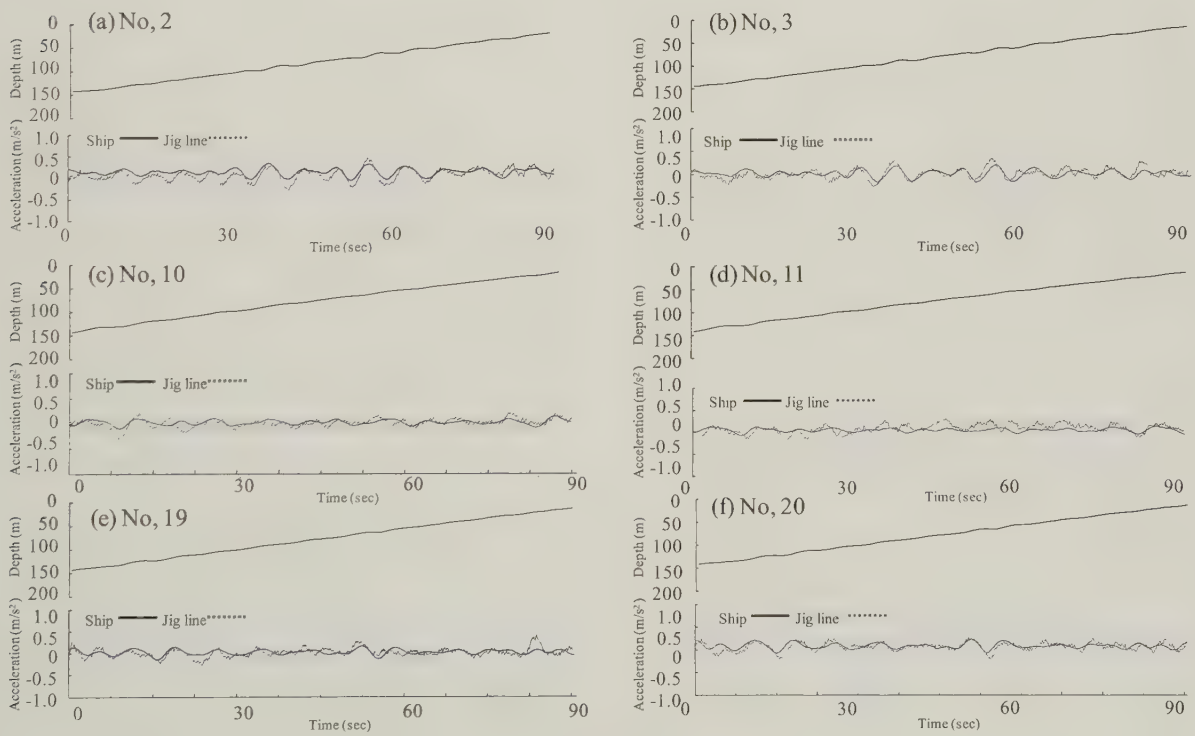


Fig. 28. Time series data of depth and acceleration obtained from No 2 (a), 3 (b), 10 (c), 11 (d), 19 (e) and 20 (f), respectively. Solid line and dotted line indicate acceleration data obtained from jig line and ship, respectively.

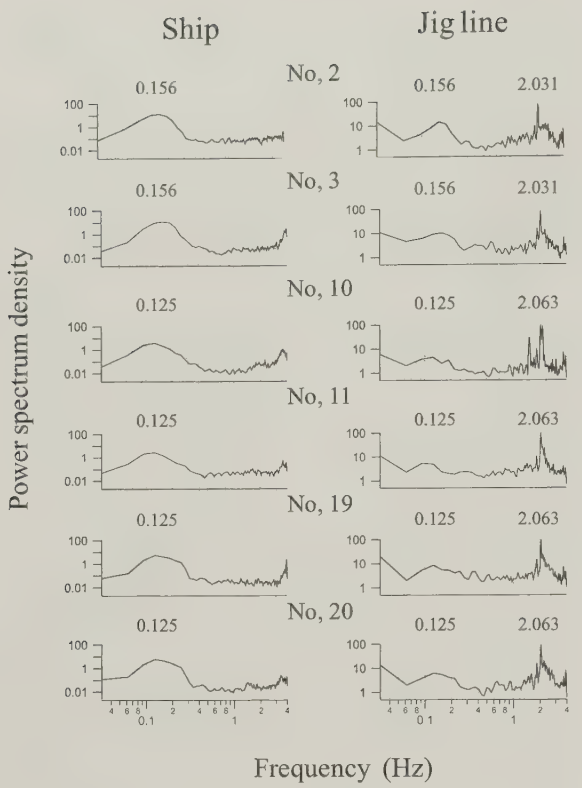


Fig. 29. Power spectrum density according to the frequency.

行動に依存するものと推察している（山下ら，2008）。今回の結果より，船体の運動が海中の釣具に伝搬していることが明らかになった。天下井（2001）はある周波数の波に対してトロール等の漁具の同調現象が起こるとしており，船体の運動がアカイカの捕捉行動を誘発する可能性も示唆された。

今回の結果から，荒天時のときに脱落率が高くなる原因は船体の運動が起因していることが明らかとなった。一方で凪のときに船体中央部で脱落が高くなるのは渦抵抗による流れ場の乱れが原因である可能性が考えられる。次章では脱落を低減するため，釣具ラインの上昇速度に着目し，アカイカの擬餌針捕捉行動に及ぼす影響について分析した。

第Ⅵ章　自動イカ釣機の釣具ライン上昇速度がアカイカの擬餌針捕捉行動に及ぼす影響

6.1　緒　　言

第Ⅴ章では針掛かり後の取り逃がしについて，天候による船体運動の観点から検討を加え，ビューフォートの風力階級４以下の比較的凪の場合は，釣機が船首船尾に近いほど脱落が少なく，釣機に付属する受け台については短い受け台に比べ長い方の脱落が少なかったことを明らかにした。しかしながら，釣具の運動に関する定量的な知見はほとんどないので，船体および擬餌針の動きを計測し，これと脱落との関係を把握する必要がある。

近年，水生動物の行動研究に装着型の加速度ロガーが使われている（Kawabe *et al.*, 2003）。この加速度ロガーには，装着した水生動物が経験した水温，水深に加えて，行動として２軸方向の加速度が記録される。対象生物の野外における行動を，加速度ロガーを用いて計測することにより，ウェッデルアザラシ*Leptonychotes weddellii*では肥満度に応じて泳法を使い分けることが明らかにされた（Sato *et al.*, 2003）。また，魚類では河川の増・濁水状態が雌ザケ*Oncorhynchus keta*の産卵行動に影響を与えていることが明らかにされ（Tsuda *et al.*, 2006），従来の調査手法では明らかにできなかった生態や行動の特性が解明されつつある（Kawabe *et al.*, 2003；Akamatsu *et al.*, 2005）。この手法は生物のみならず釣具の運動計測にも応用できるものと考え，本研究では，加速度ロガーを用いて擬餌針の繰出し・巻上げ過程における加速度を測定し，擬餌針（台和漁具社製，ジャンボ６型釣針）の動きとアカイカの針掛かり状態との関係について調べた。

6.2　材料と方法

6.2.1　加速度ロガーによる釣具ライン上昇速度の計測

調査は2006年６月６日～９月30日に，北太平洋中・西部海域（40°～46°N,150°E～170°W）において第八白嶺丸（276GT, 56mLOA）で実施した。この船の船首部，中央部，船尾部の所定の自動イカ釣機（株式会社 東和電気製作所製，MY-10）の釣具ラインのワイヤーとナイロン製の道糸との連結部に，加速度ロガー（M380L-D２GT, Little Leonard Co. Ltd., Tokyo, Japan）を取り付けた。釣具ラインの仕様は，20mのナイロン道糸の先に擬餌針を１m間隔で15個取り付け，その下端には600匁（2.25kg）の鉄錘を取り付けたものである。加速度ロガーによる計測は，日没30分後から日出までの間でアカイカのまとまった釣獲が得られ次第，約２時間連続して行った。アカイカが擬餌針を捕捉する瞬間は以下の方法で特定した。まず，釣機の集中制御盤に示された値が基準値６kgfを超える急激な負荷の上昇を検知したときの捕捉時刻と深度値を記録した。次に，アカイカの擬餌針捕捉から釣機の

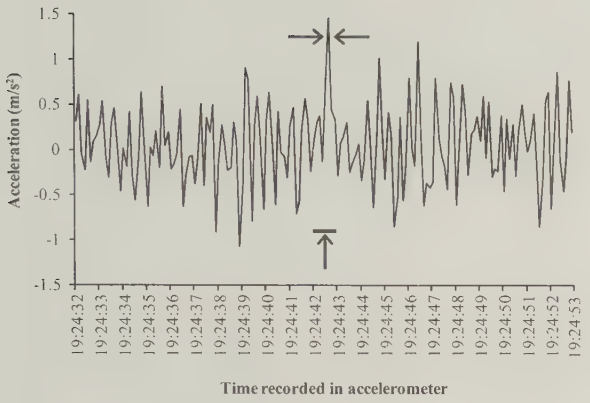


Fig. 30. An example of the recorded variation in acceleration by a squid being hooked during winding the jig-line. A peak between horizontal arrows shows the maximum positive acceleration when a squid held the jig. An upward arrow shows the time of detecting the load on the control panel of the automatic squid jigger, which is close to the time of maximum acceleration recorded on the jig line. Note that the local peaks of acceleration around the time of seizing (or grasping, attacking) the jig could show incomplete hooking of a squid. Fluctuation of the recorded acceleration was caused by the pitch and roll of the ship.

負荷表示までの糸の伸びなどによる計時誤差を考慮して，Fig. 30に例示したように，負荷上昇時刻の前後10秒間の加速度データを解析に用いた。あらかじめ同期をとってある加速度ロガーのデータのうち，この時間内で加速度が正方向に最大の値をとった時刻をアカイカが擬餌針を捕捉した瞬間とした。

加速度変化はデータロガーのY軸加速度を使用し，正方向を下向きの海底方向とした。すなわち，正の最大値が計測された時刻は，釣具ラインが捕捉により下に引っ張られた時刻である。計測された加速度には船体運動のほかに，ドラムのノイズや水中の流体抵抗などの不十分な針掛かりによる正の加速度の極大値も含まれている。このため捕捉時刻前後にいくつかのスパイク状の加速度ピークが計測されることがあった(Fig. 30)。捕捉時刻は，加速度の基準閾値を具体的な値として設定することは困難であったため，上述のように，集中制御盤による針掛かり検出で時刻の絞り込みを行ったのちに，正（すなわち下方向）の最大加速度と定義した。この時点で加速度ロガーに記録された捕捉時刻と深度値の連続する2データ間の深度差から，擬餌針を捕捉する1秒前の釣具ラインの上昇速度を求めた。なお，水深データのサンプリング間隔は1 Hzとし，上昇速度を秒速で求めた。

6.2.2 針掛かりしたアカイカの観察

加速度ロガーによる計測と同時に，擬餌針に掛ったアカイカが釣機の巻上げ過程で水面から上がり，釣機から舷外に張り出した受け台先端のローラー（前車）に接触するまでの脱落状態について観察した。擬餌針に触腕だけが掛かって残っている脱落状態を「水中脱落」，巻上げ中に水面上で脱落したものを「水上脱落」，前車に接触した時に脱落したものを「接触脱落」とする分類は3章と同様である。釣獲個体と水上および接触による脱落個体は，針に掛かった腕の種類とその本数を目視とビデオで観測し，触腕1本の針掛かり，触腕2本の針掛かり，触腕以外の他腕1本による針掛かり，触腕以外の他腕2本による針掛かり，触腕と他腕を含め3腕以上の針掛かり，口器周辺での針掛かりの6つに分類した。水中脱落個体は水中で触腕が切断し，触腕（1本あるいは2本）だけが擬餌針に掛かってくるため，触腕1本あるいは2本で擬餌針を捕捉したものとして扱った。

6.3 結　果

釣機の負荷が上昇した時刻と深度とを加速度ロガーのデータと対応して，加速度の変化から擬餌針を捕捉したと判断された5個体について針に掛かる1秒前の釣具ラインの上昇速度をTable 8に示した。

触腕以外の他腕で針掛りした3個体が擬餌針を捕捉する1秒前における釣具ラインの上昇速度は，1.6m/s，1.5m/s，1.4m/sであった。触腕のみで針掛かりし，脱落した2個体の釣具ラインの上昇速度は，2.5m/s，2.7m/sであった。これらの結果から，アカイカが擬餌針を触腕で捕捉するか触腕以外の他腕で抱え込むかの釣具ラインの上昇速度には，閾値が存在するものと推察された。

6.4 考　察

近縁種であるスルメイカ*Todarodes pacificus*の観察では，餌生物の動きが遅いとき，あるいは停止しているときは触腕の代わりに触腕以外の他腕で餌生物を抱え込むことが報告されている（Flores, 1983)。一方，カナダマツイカ*Illex illecebrosus*は大きく速い餌生物に対し，触腕よりも触腕以外の他腕で捕捉する観察例も報告されているが（Foyle and O'Dor, 1987)，水槽における摂餌行動の観察から，死亡したカラフトシシャモ*Mallotus villosus*をモノフィラメント製のナイロンで吊るしたときには触腕以外の他腕で抱え込むこ

とが報告されている（Bradbury and Aldrich, 1969）。これらの現象を考慮すると，アカイカは釣具ラインの上昇速度が遅いときは触腕以外の他腕によって擬餌針を抱え込みし，上昇速度が速いときは触腕のみで擬餌針を捕捉するものと推察された。

次章では，アカイカが触腕のみで擬餌針を捕捉する時と触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む時の釣具ラインの上昇速度の範囲を推定することにより，触腕以外の他腕での針掛かりを促進して，脱落率を低減する巻上げ回転数を検討した。

第Ⅶ章　アカイカ釣り漁業における釣具巻上げ回転数制御による脱落率低減

7.1　緒　　言

第Ⅵ章では，本種が擬餌針を捕捉する直前の巻上げ回転数と捕捉行動との関係を調べた。その結果，釣具ラインの上昇速度が2.5m/s程度の速度では触腕のみで，1.5m/s前後では触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む傾向を確認している。これらの現象より，アカイカが擬餌針を捕捉する際に，触腕か，それとも触腕以外の他腕を使うかは，釣具ラインの上昇速度による閾値が存在するものと考えられる。そこで本研究では，加速度ロガーを使用してアカイカが擬餌針を捕捉する際の釣具ラインの上昇速度と捕捉行動との関係を解析し，触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む釣具ラインの上昇速度をロジスティック式により推定した。さらに，この結果が釣獲向上につながるかを検証するため，釣機ドラムの巻上げ回転数を変化させて操業試験を行った。

7.2　材料と方法

調査は2007年６～９月に，中部北太平洋海域（Lat. 35°～45° N, Long.170° E～170° W）において，（独）水産総合研究センターが用船した第八白嶺丸（276GT）で実施した。漁獲物は，170°以東に分布する外套背長（*ML*）35cm以上のメス主体の秋生まれ群を対象とし（Ichii *et al.*, 2004；Murata, 1990），*ML* 35cm以上を大型サイズ，*ML* 35cm未満を小型サイズとした。

7.2.1　巻上げ回転数の最適化試験

第八白嶺丸ではイカ釣機（株式会社東和電気製作所製，MY-10）を右舷に21機，左舷に22機を備えている（Fig. 31）。巻上げ回転数の最適化試験は，ビューフォート風力階級４以下の平穏な海況で行い，この条件で脱落率が低いとされる長い受け台（山下ら，2008）が装備されているイカ釣機を対象とし，右舷側の４号機，８号機，10号機，14号機，16号機，20号機を使用した。各釣機には，15個の擬餌針を取付けた釣具ラインを繰り出し・巻上げるための八角ドラムが両舷に２個ずつ備わっている。2008年６月３日～７月12日にかけて，巻上げ回転数としては通常用いられる毎分65回転を中心に50回転から80回転を６台のイカ釣機に設定し（Table 9），回転数の異なるイカ釣機毎に，釣獲した個体と脱落した個体を計数し，CPUEを求めた。観測は１日１回，約１時間で，過去の調査結果から最も釣獲が多いと判断される日没前後を主体に行った。漁獲物に関しては，６種類の巻上げ回転数によってそれぞれ釣獲されたアカイカを集めて，釣獲開始から順次100個体採集し，*ML*を測定した。操業に際しては，イカ釣機の釣具ラインがお互いに絡まるのを防ぐため，２個備わっている八角ドラムのうち，船首側の八角ドラム一機のみ使用し，全釣機の繰り出し回転数を毎分70回転とし，釣具の到達水深を150mとした。

巻上げが速いイカ釣機は，巻上げ完了後も他の遅いイカ釣機の巻上げが完了するまで待機し，全てのイカ釣機が巻上げを完了してから同時に繰り出しを開始させる同期設定とした（MY-10 集中制御盤 取扱説明書 ver 2.0, 株式会社 東和電機製作所）。この同期設定の

Table 8. Capture situation and upward jig speed immediately before hooked

Date	Aug. 8, 2006	Sep. 8, 2006	Sep. 8, 2006	Sep. 8, 2006	Sep. 8, 2006
Beaufort scale	5	1	1	1	1
Position of the automated squid jigging machine	Midship	Midship	Midship	Midship	Stern
Caught or fall-off	Caught	Fall-off in the water	Caught	Caught	Fall-off in the water
Hooked pattern	Three arms or more	Tentacles	Two arms	Two arms	Tentacles
Hooked depth (m)	155	140	140	145	90
Hooked time (h:m:s)	20:42:45	19:24:42	20:03:20	20:10:50	19:28:25
upward jig speed immediately before hooked (m/s)	1.6	2.7	1.5	1.4	2.5

条件では，巻上げ回転数にかかわらず，操業1時間あたりのイカ釣機の釣具ラインを繰出し・巻上げる1ストロークの数（観察ストローク数）が等しくなる。しかし実際の操業では，全てのイカ釣機を同じ巻上げ回転数で稼働させた場合，巻上げ回転数によって1時間当たりのストローク数も異なる。そこで，CPUEの算出にあたっては，待機時間がなかったものとして，巻上げ回転数ごとに1時間当たりのストローク数（s）を次式により算出した。

まず，ストロークに掛かる繰出し・巻上げの所要時間（t）を求めると，

$$t=\frac{d}{l\times 1.32}+\frac{d}{k\times 1.32} \quad (14)$$

ここで，dは到達水深，lは繰出し速度，kは巻上げ速度とした。なお，釣具ラインを巻き取る八角ドラムの周長は1.32mであった。

次に，1時間（T_{min}）当たりのストローク数を求めると，

$$S=\frac{T_{\min}}{t} \quad (15)$$

となる。

釣獲個体数cを観察ストローク数bで除したものを1ストローク当たりの釣獲個体数（f）とすると，

$$f=\frac{c}{b} \quad (16)$$

となる。

これに1時間当たりのストロークsを乗じ，釣機台数ωで除したものをCPUE（釣獲個体数 / 操業時間 / 釣機）と定義した。

$$CPUE=\frac{(f\times s)}{w} \quad (17)$$

7.2.2 釣具ライン上昇速度と擬餌針の捕捉行動に関する計測

加速度ロガー（M380L-D 2 GT, Little Leonard Co. Ltd., Tokyo, Japan）をFig. 32に示すように，釣具のワイヤーとナイロン道糸との連結部に取り付け，釣具ラインの上昇速度とアカイカの擬餌針捕捉行動に関する計測を行った。針掛かり時刻の瞬間の記録と加速度ロガーの取り付けは右舷側の中央部（10号機または11号機）のイカ釣機（Fig. 31）で行った。

イカ釣機は八角形ドラムを使用し，巻上げ回転数は毎分65回転に設定した。日没30分後から日出までの間でアカイカのまとまった釣獲が得られたときに，約2時間にわたって加速度ロガーによる計測を連続して行った。実験は，既報（黒坂ら，2008）に準じて次のように行った。まず，釣機の集中制御盤に示された値が基準値6 kgfを超える急激な負荷を検知したときをアカイカによる擬餌針の捕捉した瞬間とみなした。この時点で加速度ロガーに記録された捕捉時刻と深度値の連続する2データ間の深度差から，擬餌針を捕捉する1秒前の釣具ラインの上昇速度を求めた。なお，深度データのサンプリング間隔は1 Hzとし，上昇速度を秒速で求めた。

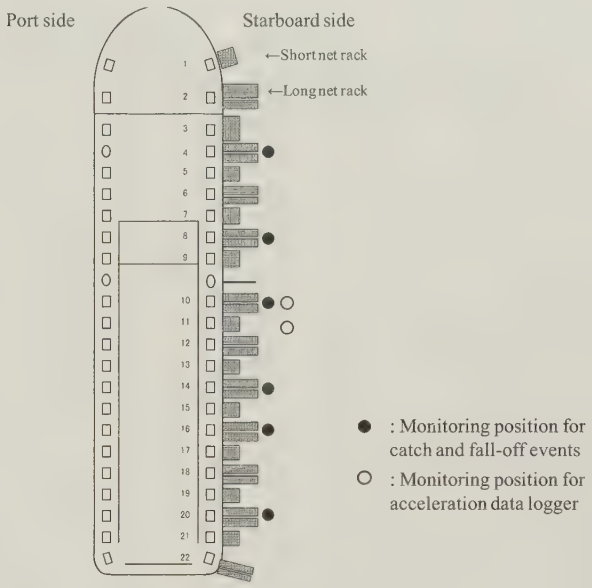


Fig. 31. Arrangement of the automated squid jigging machines on Hakurei Maru No.8, for showing the starboard side monitoring on catch and fall - off events.

Table 9. Combination pattern s of drum hauling speed setting-according to the automated squid jigging machine for monitoring

Starboard side						
Automated squid jigging machine	Pattern①	Pattern②	Pattern③	Pattern④	Pattern⑤	Pattern⑥
No.4	50rpm	70rpm	65rpm	60rpm	80rpm	75rpm
No.8	60rpm	80rpm	75rpm	50rpm	70rpm	65rpm
No.10	65rpm	50rpm	70rpm	75rpm	60rpm	80rpm
No.14	75rpm	60rpm	80rpm	65rpm	50rpm	70rpm
No.16	70rpm	65rpm	50rpm	80rpm	75rpm	60rpm
No.20	80rpm	75rpm	60rpm	70rpm	65rpm	50rpm

7.2.3 触腕による擬餌針捕捉率に関する解析

加速度ロガーを取り付けた釣機で合計42個体が釣獲された。この擬餌針捕捉行動の結果，触腕による擬餌

針捕捉時の釣具ラインの上昇速度は平均値1.85m/s,触腕以外の他腕による抱え込みがあった場合の上昇速度は平均値0.93m/sであった（Table 10）。

この結果をもとに，アカイカが触腕で擬餌針捕捉する際の釣具ラインの上昇速度を推定した。その場合，擬餌針を捕捉した時の掴み方が触腕か触腕以外の他腕であるかに着目して，２項分布を仮定し，釣具ラインの上昇速度（m/s）を変数として全針掛かり数に対して触腕で捕捉する確率（触腕捕捉率：p）との関係をロジスティック式（Dobson and Barnett, 2008）により推定した。

触腕捕捉率 pは次のモデルで表される。

$$p=\left\{\frac{1}{1+\exp[-(\lambda)]}\right\} \tag{18}$$

$$\lambda=(\alpha+\beta)\times w \tag{19}$$

ここで，αとβは，釣具ラインの上昇速度wの選択曲線に近似するロジスティク式パラメータである。これらのロジスティク式のパラメータを最尤法（平松，1992）で決定した。

擬餌針を捕捉し，針掛かりしたn個体のうち，j個体が触腕で掴み，n-j個体が触腕以外の腕で擬餌針を掴んだときの最大対数尤度（MLL）は次式で示される。

$$MLL=\Sigma\{\ln(n!)-\ln(j!)-\ln[(n-j)!]+j\ln(\hat{p})+(n-j)\ln(1-\hat{p})\} \tag{20}$$

この値を最大にするパラメータをMS-EXCELソル

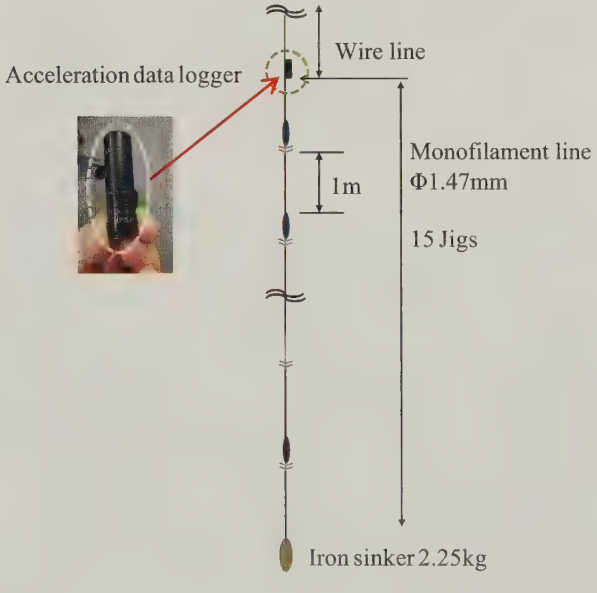


Fig. 32. Schematic diagram showing the position of acceleration data logger attached to the wire lead line.

バーによって求めた（東海，1997）。

漁具の選択性を示すロジスティク式においては，選択性の特性を示す指標として50%選択体長（L_{50}）や選択レンジが用いられる（Wileman *et al.*, 1996）。これにならって，擬餌針を捕捉したアカイカのうち半数が触腕で捕捉した場合の釣具ラインの上昇速度を50%触腕捕捉率（R_{50}）と呼ぶこととする。これらはロジスティク式パラメータαとβを用いて次のように求めることができる（Sparre *et al.*, 1993）。

$$R_{50}=-\frac{\alpha}{\beta} \tag{21}$$

7.2.4 釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係

釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係について調べるため，通常操業で用いられる八角形ドラム（株式会社東和電気製作所製）（Fig. 33）が１回転したときの釣具ラインの速度の変化について求めた。八角形ドラムは，２枚のカーボンフレームの間に，８本の丸鋼を両端でねじ止めし，その軸に塩化ビニル製のパイプをはめ込んで構成されている。

Fig. 33 に示すように；ドラムには巻取り用の８本のパイプ（以下，巻取りロッド）が巻取られる釣具ラインに接するように配置されている。この巻上げドラムは中心線（Fig. 33）に対して上下左右に対称であり，巻上げドラムの中心から巻取りロッドの中心までの長さは２通りで，長径軸は262.5mm,短径軸は176.0mmになっている。釣具ラインの上昇速度はこの巻取りロッドとドラムの中心までの距離によって決定される。この長径軸と短径軸の巻上げ長さの違いが釣具のシャクリの効果（見上ら，2001）を作り出している。

巻上げ回転数k（rpm）とドラムの中心cから巻取りロッド中心eまでの距離をjとすると，長径軸j_1は釣具ラインの最高速度 V_{MAX}（m/s）として，

$$V_{MAX}=\frac{2\pi j_1 k}{60} \tag{22}$$

となり，短径軸j_2は釣具ラインの最低速度 V_{MIN}（m/s）として，

$$V_{MIN}=\frac{2\pi j_2 k}{60} \tag{23}$$

となる。

巻上げ回転数から求める平均速度（$\hat{V}$）は，

$$\hat{V}=\frac{k}{T_{\min}}\times 1.32 \tag{24}$$

Table 10. Capture statistics on hooked time and depth, in relation with the upward jig speed

Data	Position of the jigging machine	Hooked time	Hooked depth (m)	Upward jig speed immediately before hooked (m/s)
(1) Tentacle (1or 2)				
Sep. 8, 2006	Midship	19:24:42	140	2.70
Sep. 8, 2006	Midship	19:28:25	90	2.50
Jul. 13, 2007	Midship	19:10:10	150	1.90
Jul. 21, 2007	Midship	20:56:00	146	1.37
Jul. 21, 2007	Midship	20:52:30	95	1.71
Jul. 21, 2007	Midship	20:24:57	135	1.81
Jul. 22, 2007	Midship	19:41:45	122	0.95
(2) Arm (1or 2)				
Sep. 8, 2006	Midship	20:03:20	140	1.50
Sep. 8, 2006	Midship	20:10:50	145	1.40
Jul. 13, 2007	Midship	20:02:45	140	1.14
Jul. 13, 2007	Midship	21:32:50	142	0.48
Jul. 13, 2007	Midship	19:14:00	150	0.95
Jul. 21, 2007	Midship	20:06:30	148	0.29
Jul. 22, 2007	Midship	18:39:18	150	0.10
Jul. 22, 2007	Midship	18:45:37	35	1.05
Jul. 22, 2007	Midship	19:01:55	97	0.99
Sep. 10, 2007	Midship	19:31:05	84	1.05
(3) 3 or more arms				
Aug. 8, 2006	Midship	20:42:45	155	1.60
Jul. 13, 2007	Midship	21:16:30	125	0.09
Jul. 13, 2007	Midship	18:30:01	121	1.05
Jul. 13, 2007	Midship	17:40:09	118	1.24
Jul. 13, 2007	Midship	20:15:57	152	1.24
Jul. 13, 2007	Midship	18:19:12	138	0.38
Jul. 13, 2007	Midship	19:25:40	123	1.62
Jul. 21, 2007	Midship	20:56:00	148	0.0
Jul. 21, 2007	Midship	20:06:30	148	0.29
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:23	150	0.38
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:19	155	1.41
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:19	155	1.41
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:19	155	1.41
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:19	155	1.41
Jul. 21, 2007	Midship	19:47:19	155	1.41
Jul. 21, 2007	Midship	20:48:00	146	1.71
Sep. 19, 2007	Midship	17:52:50	29.8	1.52
Sep. 19, 2007	Midship	18:13:50	31	0.71
(4) Bite jig by the mouth				
Jul. 21, 2007	Midship	20:21:10	137	0.76
Sep. 19, 2007	Midship	17:52:50	29.8	1.52

となる。

7.3 結　果

7.3.1 巻上げ回転数の最適化試験

調査操業期間中，巻上げ回転数の最適化試験については10回の操業試験を行い，合計620個体のアカイカを釣獲した。巻上げ回転数別の脱落率をFig. 34に示した。その結果，毎分50回転では脱落率19%となり，毎分65～80回転との間で有意な差が見られた（peritzの方法；永田・吉田，1997，$p<0.05$）。なお，毎分60回転の条件では操業による脱落率のバラツキが大きく，他の巻上げ回転数と有意な差が見られなかった。他方，毎分80回転では脱落率48%と高く，毎分50～75

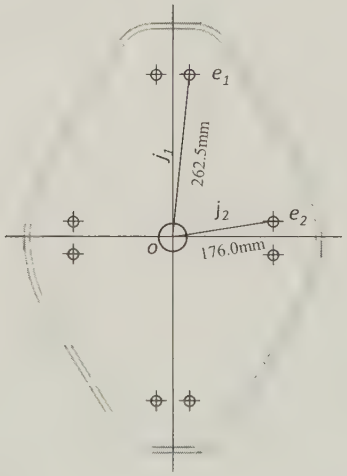


Fig. 33. Plan configuration of the octagonal hauling drum for winding the jig line.

回転との間で有意差が検出された（peritzの方法，$p<0.05$）。以上より，脱落率と釣具の巻上げ回転数には密接な関係があり，巻上げ回転数を高めると脱落率が高くなり，下げると脱落率は低くなることがわかった。

なお，調査を行った漁期のアカイカの*ML*は6月のモードが*ML*36cm（22-48cm），7月のモードが*ML* 37cm（26-49cm）であった（Fig. 35）。この期間中の漁獲物は，64%が50%脱落率（F_{50}）（Kurosaka *et al.*, 2012）*ML* 37.4cm以上の大型サイズであった。

7.3.2 触腕による擬餌針捕捉率に関する解析

釣獲状況の目視観察からも，釣具ラインの上昇速度が遅いときは，触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む傾向にあることが確認された。他方，釣具ラインの上昇速度が速いときは，触腕で擬餌針を捕捉する傾向にあった。巻上げ回転数に対する触腕による擬餌針の捕捉率をロジスティック式に当てはめてパラメータα，βを推定した。その結果，得られた巻上げ回転数に対する触腕捕捉率（Fig. 36）を，次式に示した。

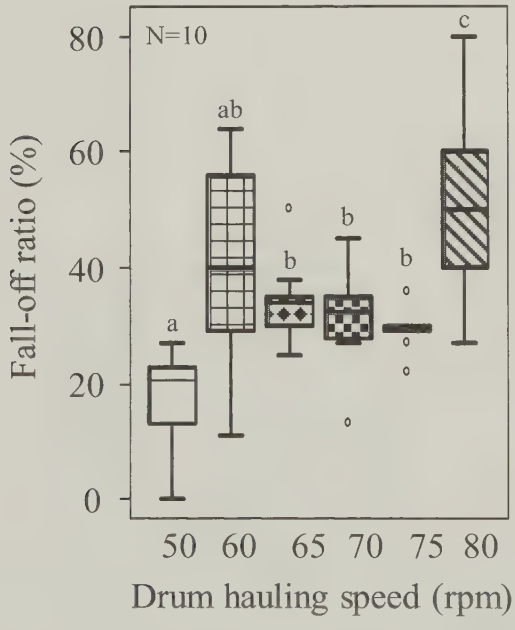


Fig. 34. Box plots analysis showing the fall-off ratio according to the drum hauling speed. Median is shown by a solid bar within the box; 25th and 75th percentiles are indicated as box ends, with maximum and minimum values are indicated as bar caps of each box plot. Different set of letter shows significant difference by Peritz's method ($p<0.05$).

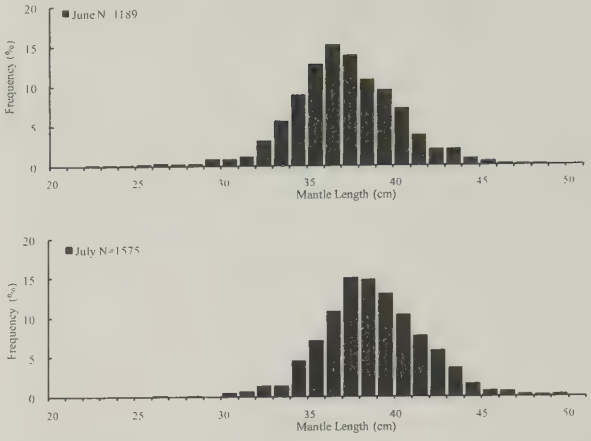


Fig. 35. Mantle length of sampled neon flying squid *Ommastrephes bartramii* in June and July, 2008.

$$p=\left\{\frac{1}{1+\exp[-((-7.938)+4.518\times w)]}\right\} \quad (25)$$

また，求められたロジスティック式のパラメータ推定値$\alpha=-7.938$，$\beta=4.518$より，50% 触腕捕捉率（R_{50}）時の上昇速度は，（21）式より1.75m/sとなった。

このことから，釣具ラインの上昇速度が1.75m/sより速いと触腕捕捉率が高くなり，結果として触腕破断による脱落の可能性を増大させる傾向にあることが確認された。

7.3.3 釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係

釣具ラインの上昇速度と巻上げ回転数との関係をFig. 37に示した。前項で求めた50%触腕捕捉率時の上昇速度1.75m/sと巻上げ回転数との関係をみると，毎分60回転以下では上昇速度が0.92～1.65m/sの範囲となって触腕捕捉率の閾値である1.75m/sを下回り，毎分65回転以上では上昇速度が1.79m/s～2.20m/sの範囲となって1.75m/sを超える長径軸の最高速度が算出された。

この結果を踏まえて操業試験を行った。同期設定の6台のイカ釣機1台当たりの操業回数は合計10回，操業時間は合計10時間，観察ストローク数は合計146ストロークであった。（15）式を利用して1時間当たりのストローク数を求めた結果，毎分50回転で15.4回，60回転で17.1回，65回転で17.8回，70回転で18.5回，75回転で19.1回，80回転で19.7回であった。次に，（16）式を利用してストローク当たりの釣獲個体数を求めた結果，毎分50回転で0.5個体，60回転で0.5個体，65回転で0.8個体，70回転で1.2個体，75回転で1.0

個体，80回転で0.4個体であった。（17）式を利用して巻上げ回転数別のCPUEを求めた（Fig. 38）。その結果，CPUEは毎分70回転，75回転でそれぞれ21.4個体，18.3個体と高い値を示し，毎分50回転～65回転および80回転との間に有意差が見られた（peritzの方法，$p<0.05$）。以上より，毎分80回転では，CPUEは8.5個体と低く，巻上げ回転数を上げても必ずしも釣獲向上には結びつかないことが判明した。

7.4 考　察

村田ら（1981）は，アカイカが触腕破断後も相当数が生き残り，成長パターンは正常個体と変わらないと推察している。また，他のイカ類の触腕は餌生物の捕捉に重要な役割を果たすとされるが，アカイカの場合は必ずしも必要器官とは言えないとしながらも，再生の所要日数および生存率については不明であり，交接時になんらかの支障をきたすこともあり得ると考察している。

さらに，1979，1980年10月～11月の155° E以西海域で，流し網と釣り調査で漁獲されたアカイカの再生触腕を持つ個体と持たない個体の*ML*組成を比較した結果，再生触腕を持つ個体の方が*ML* 30cm未満モードの小型サイズが多いことを報告している（村田ら，1981）。Kurosakaら（2012）は，小型サイズの方が脱落率は高いことを報告しており，その要因の1つは擬餌針捕捉行動にあると考察している。大型サイズは上昇する釣具ラインに対して，触腕による擬餌針捕捉を行い，その後に漏斗による強い海水吐出推進力で釣具ラインの上昇に対応し，触腕以外の他腕を使ってしっかりと擬餌針を抱き込むものと推察している。他方，小型サイズは吐出推進力が弱いため触腕で擬餌針を捕捉した後に，上昇する釣具ラインに追いつかず触腕のみで巻上げられて，破断に至るものと推察している。村田らの報告と黒坂らの報告は小型サイズが触腕破断しやすい点で一致しており，小型サイズをできるだけ針掛かりさせない方策が必要である。

アカイカの吐出推進力は体サイズによって異なり（Bartol *et al.*, 2001），遊泳能力が釣獲と脱落現象にむすびつく重要な手掛かりかもしれない。そこでまず，釣具ラインの上昇速度が速くなると触腕捕捉の可能性が高くなることについて考察する。ここで，毎分65回転の操業条件で八角ドラムの形状から計算した上昇速度は最高速度1.79m/s，最低速度1.20m/s となった（Fig. 37）。一方，加速度ロガーを用いて得た釣具ラインの上昇速度（Table 10）は，毎分65回転で釣具ラインを巻上げた際に観測したデータである。観

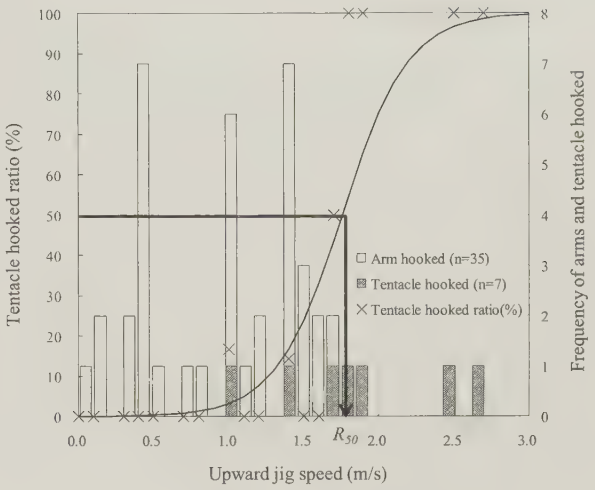


Fig. 36. Logistic curve analysis for tentacle hooked ratio according to the upward jig speed.

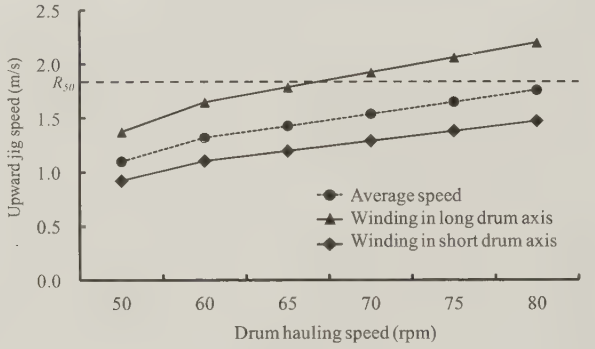


Fig. 37. Calculated jig speed by the winding drum shape, according to the drum hauling speed.

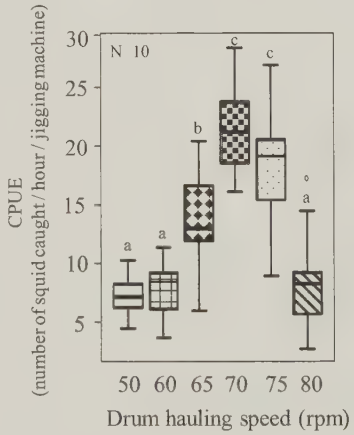


Fig. 38. Box plots analysis showing the CPUE (number of squid caught / hour / line) according to the drum hauling speed. Median is shown by a solid bar within the box; 25th and 75th percentiles are indicated as box ends, with maximum and minimum values are indicated as bar caps of each box plot. Different set of letter shows significant difference by Peritz's method ($p<0.05$).

測データは触腕捕捉の平均速度が1.85 m/s,触腕以外の腕の平均速度が0.93m/sとなり，いずれもドラムから求めた上昇速度の範囲外にあった。最低速度が計算値より観測値が下回ったのは，海中での釣具に対する流体抵抗や摩擦抵抗が大きく関わっていると考えられる（五十嵐・見上，1978）。他方，最高速度が計算値より観測値が上回ったのは，船体の運動が釣具ラインに伝搬すること，ならびに釣具ラインがドラムに巻取られるうちに，除々に直径が大きくなり釣具ラインの上昇速度が加速することに起因する。また，毎分 60回転の最高速度は1.65m/s（Fig. 37）と，R_{50} の1.75m/sを下回っているにもかかわらず，脱落率の平均値は44％と高かった（Fig. 34）。これは前述の釣具ラインに影響を与える要素が加わり，釣具ラインの巻上げ回転数が加速したため，触腕捕捉率が高まったことによるものと推察された。さらに，毎分80回転ではCPUEが向上しなかった原因も同様の影響が考えられる。

渡部ら（1995）は大型サイズのアカイカを効率的に釣獲するため，釣具ラインの上昇速度を0.8～1.2 m/sに設定して巻上げ回転数を変えた操業で釣獲試験を行った。その結果，上昇速度を遅くすると脱落は低減されたが，CPUEも低下することを報告している。本研究でもアカイカの脱落率と巻上げ回転数との関係を調べた結果，巻上げ回転数を下げたときに脱落率，触腕捕捉率がともに低減されたが，CPUEも低下した。この原因として，F_{50}（Kurosaka *et al.*, 2012）以上の大型サイズが漁獲物に64％も占めていたため，脱落率低減効果が見られなかったと考えられる。他方，毎分70～75回転でCPUEが高まった（Fig. 38）のは，巻上げ回転数が増したことでストローク数と釣獲個体数が増加したためである。CPUEは１ストローク当たりの釣獲個体数に１時間当たりのストローク数を乗じたものである。以上より，釣獲向上には*ML*35cm以上の大型サイズでは，巻上げ回転数を毎分70～75回転の範囲で釣機の巻上げ回転数を上げてストローク数を増すと効果的である。他方，触腕破断の可能性が高い*ML*35cm未満の小型サイズでは，釣具ラインの上昇速度が1.75 m/s以下である毎分60回転よりも遅くすることが触腕捕捉率と脱落率の低減につながり効果的である。

以上のことから，アカイカの釣獲向上には，季節や漁場で釣獲対象の体サイズに応じて巻上げ回転数を制御することが，脱落を低減させる有効な方法であることを解析結果と実証例をともに提案した。すなわち，大型サイズ主体の漁場探索（小河，2002；小河，2003）を行い，巻上げ回転数の設定によって大型サイズの釣獲を向上させ，同時に釣獲される小型サイズについては他腕による擬餌針捕捉を増大させることで触腕破断を低減し，合理的な資源利用を図れるものと考えられる。

第Ⅷ章　総合考察

本研究はアカイカの釣獲技術の向上を目的として，操業現場で多発する釣り落とし現象，すなわち脱落の発生機構とその対策を明らかにしたものである。

第Ⅰ章では，北太平洋のアカイカ漁業の変遷と釣り漁業の実態について明らかにした。アカイカ漁業は1970年代から流し網によって漁獲されてきたが，1992年の国連決議で公海上の流し網操業がモラトリアムとなり，1993年以降は釣り漁業へと転換した。現在は主に日本，台湾，中国によって操業が行われており，外国漁船の隻数が年々増大し，かつ操業海域も拡大しつつあり，北太平洋のアカイカ漁場は国際的な漁場の下での開発と管理が要求されてきている（黄金崎，2002）。これらの海域におけるアカイカ資源を持続的に有効利用していくことが，イカ釣り漁業全体の経営安定にもつながっていくものである。このためにも北太平洋のアカイカ漁業について，操業秩序の確立が急がれるとともに，北太平洋のアカイカ資源の国際管理体制の構築が必要であることを指摘した。

第Ⅱ章では，資源の管理方策について検討するため，ミトコンドリアDNA分析の塩基配列から推測したアカイカの集団構造について解析した。その結果，この北太平洋の公海漁場に分布する本種は，ほぼ一つの遺伝的集団とみなせ，着業船数が無制限に増えて過剰な漁獲圧がかかる前に，国際的な漁業管理が必要であること指摘した。他方，調査対象とした北太平洋とインド洋のアカイカには海域特有の塩基置換がみられた。現在，インド洋などの南半球では，アカイカ漁業は行われていないが，未利用資源として今後の漁業が成立する可能性もある（ダニング，1998）。その際，社会的に問題になっている食品の原産地表示のためにも，本研究で得られた海域特有の塩基置換部位が利用できることを提言した。

以上の２章をもとに，アカイカ資源の適切な漁業管理を行うには，北太平洋のイカ釣り操業過程の実際を理解し説明する必要がある。そこで第Ⅲ章では，触腕破断による釣り落としの減少を目的として擬餌針の巻上げ過程の観測結果から，アカイカの脱落現象を次の３パターンに分類した。擬餌針に触腕のみが掛かって巻上げられてきたものを「水中脱落」，海面から出てガイドローラーに触れる前に脱落したものを「水上脱落」，アカイカがガイドローラーに接触した際の脱

落を「接触脱落」とした。2006～８年の３年間の調査によると，それらを合計した脱落率は針掛かりした総個体数の36％で，その中でも水中脱落の割合が最も高く，触腕のみで針掛かりした個体の脱落率は92％であった。さらにロジスティック式を適用して外套背長と脱落率との関係を求めたところ，小型サイズで脱落率が高く，擬餌針から脱落する50％脱落率（F_{50}）時の外套背長（ML）は37.4cmと推定された。また釣獲，脱落個体の針掛かり状態と体サイズを観測した結果，３腕以上が針掛かりして釣獲された個体は触腕で針掛かりした個体に比べ有意に大型であった。従って，F_{50}よりも小型サイズで脱落率が高くなるのは擬餌針を触腕で捕捉し，触腕破断を起こすことによるものと推定された。一方，F_{50}よりも大型サイズでは小型に比べて推進力が大きいため，触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む割合が高まり，脱落率が低くなるものと考えられた。そこで，触腕がどの程度の荷重で破断するのか触腕の破断強度を計測したところ，ML 41.4cmより小型サイズでは触腕１本の破断強度が体重と同程度であることが示された。このことから小型アカイカは触腕１本で擬餌針を捕捉した場合，触腕破断の可能性が残ることが示唆された。

次に，脱落現象の発生要因については，水産庁の調査（水産庁，1996）により，凪と荒天で脱落率の傾向が異なり，ビューフォート風力階級に基づく風力５以上の荒天の場合に船首船尾の釣機で脱落率が高かったことから，船体運動との関係が示唆されている。そこで第Ⅳ章では脱落率と船体運動との関係を検証することとし，船体運動が脱落に及ぼす影響を具体化するためにロジスティック回帰分析を行った。2003～５年に大型イカ釣り漁船第八白嶺丸（276GT，自動イカ釣機：左舷21台・右舷22台）の釣機毎の釣獲個体数・脱落個体数を日没前後または夜間に１回２時間計数した結果，船体の釣機位置別の脱落発生状況は，風力４以下の凪では釣機が船首船尾に近いほど，また釣機に付属する受け台は長い方が脱落は少なかった。このことから穏やかな海況では，ピッチングやローリングの影響が相対的に大きい釣具ラインほど脱落が有意に少なくなる傾向があり，これは本種の擬餌針捕捉行動に依存するものと推察された。すなわち，船体運動に伴う釣具の運動に反応して触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む行動が促されたと考えられる。一方で，風力５以上の荒天時では，船首船尾の釣機で脱落率が顕著に高まることが観測されている。

このように船体の運動が脱落に影響していることが明らかとなった。この現象を解明するため，第Ⅴ章では加速度ロガーを使用して船体および釣具の運動を計測し，船体の運動が釣具に伝搬されているのかの検証を行った。検証にあたっては，ガイドローラーおよび釣具ラインにて記録される加速度信号の特性を調べるために，高速フーリエ変換（FFT）によるパワースペクトル密度（PSD）の計算を行った。その結果，ガイドローラー位置で検出された船体の卓越周期0.125～0.090Hzと同周期のスペクトルが海中の釣具でも測定された。この周期は船体運動の周期と一致しているため，船体の運動が海中の釣具に伝搬することが明らかとなった。荒天時の船体運動が擬餌針に伝搬した場合，アカイカが触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込む前に触腕破断を起こしやすくなっているものと考えられる。以上より，荒天のときに脱落率が高くなる原因は船体の運動が起因していることを明らかにした。一方で凪時には，船体中央部で脱落が高くなるのは船底に付属するビルジキールの渦抵抗の乱れが原因である可能性が示唆された。

このように脱落の発生原因は，船体の運動が釣具ラインに伝搬することで触腕破断に関係していることが推察された。そこで第Ⅵ章では，イカ釣機の巻上げによる釣具ラインの上昇速度に着目し，アカイカの擬餌針捕捉行動に及ぼす影響について分析した。まず擬餌針からのアカイカの脱落を低減するために，巻上げ過程における釣具の運動とアカイカの針掛かり状態との関係を把握した。イカ釣機で使用する釣具ラインのワイヤーとナイロンテグスの連結部に加速度ロガーを取付けて擬餌針の運動を計測した。釣機の集中制御盤が基準値６kgfを超える値を検知した場合をアカイカによる擬餌針の捕捉とみなし，捕捉時刻と深度値を記録した。この時点で加速度ロガーに記録された深度値の連続する２データ間の深度差から，アカイカが擬餌針を捕捉する直前の釣具ラインの上昇速度を求めた。また，この擬餌針捕捉に対応するアカイカの釣獲および脱落状態を記録した。その結果，1.50m/s前後では触腕以外の他腕で擬餌針を抱え込みし，2.50m/s程度の速度では触腕だけで擬餌針を捕捉する傾向が認められた。これらの現象より，アカイカが擬餌針を触腕で捕捉するか，それとも触腕以外の他腕で抱え込む行動には，釣具ラインの上昇速度による閾値が存在するものと推察された。

最後に第Ⅶ章として，釣獲過程におけるアカイカの脱落現象を低減する方策として，釣具の巻上げ回転数に着目し，毎分50～80回転の条件で６段階にこの回転数を変化させて操業を行い，脱落率との関係を調べた。その結果，毎分50回転では脱落率が低くなった。アカイカが触腕で擬餌針を捕捉する釣具ラインの上昇速度を推定するため，触腕による捕捉率（針掛かり個

体総数に占める触腕による擬餌針捕捉個体数の割合）と釣具ラインの上昇速度との関係を検討した。その結果から，擬餌針を捕捉したアカイカのうち半数が触腕で捕捉した場合の釣具ラインの上昇速度を50％触腕捕捉率（R_{50}）とすると，この時の上昇速度は1.75m/sと推定された。このことから上昇速度が1.75m/sより大きいと触腕による捕捉率が高くなり脱落が発生しやすいものと推察された。また，巻上げ回転数とR_{50}の関係をみると，毎分60回転以下では上昇速度が0.92～1.65m/sの範囲となって1.75m/sを下回り，毎分65回転以上では上昇速度が1.79～2.20m/sの範囲となって1.75m/sを超える速度が検出された。これらの結果を踏まえて，操業試験を行った。その結果，釣具最下端の降下深度を150mとして操業した場合，毎分70～75回転でCPUE（釣獲個体数 / 操業時間 / 釣機）は最も高くなった。これは釣機の巻上げ回転数が速くなったことで，釣具を繰出し・巻上げる１連の動き，１ストローク当たりの釣獲個体数が増えたためである。CPUEは１ストローク当たりの釣獲個体数に１時間当たりのストローク数を乗じたものである。この操業試験において毎分50回転でCPUEが高くならなかったのは，この期間中に釣獲されたアカイカがF_{50}付近の大型サイズであったため，巻上げ回転数を下げてもCPUEは向上しないものと考えられた。以上より，釣獲向上には*ML* 35 cm以上の大型サイズでは毎分70～75回転に巻上げ回転数を上げてストローク数を増し，*ML* 35 cm未満の小型サイズには巻上げ回転数を下げて脱落率を低減させる方策が有効であることを提案した。

日本のアカイカ釣り漁業は，おもに夏イカ漁と冬イカ漁の２つに分かれる。夏イカ漁は５月中旬頃から東経170°以東海域の北緯37°付近から始まり，８月頃には北緯46度付近にまで達する（黄金崎，2002）。釣獲対象はおもに秋生まれ群主体となる。他方，冬イカ漁は10月上旬から２月下旬まで三陸沖合で操業が行われ（黄金崎，2002），釣獲対象は冬・春生まれ群となる。本研究の対象となったアカイカは夏イカ漁の秋生まれ群である。したがって，今回得られた知見が冬イカ漁の冬・春生まれ群にも適用されれば，小型のアカイカに対して脱落を低減させ，合理的に釣獲することが可能となる。

第Ⅰ章で触れたように北太平洋では中国，韓国，台湾などの複数の国々の漁船数が年々増加している国際漁場である。これらの外国船は１年を通して，おもに東経170°以西で操業を行っており，冬・春生まれ群を対象に釣獲している。近年の三陸沖合のアカイカ冬春生まれ群を対象とする冬イカ漁では，比較的資源水準の高かった2009 年（１～３月）から2010年（１～３月）に漁獲量が５分の１に減少（2,298トン）したことから資源の悪化が懸念された（酒井，2012）。2011年の冬漁では漁獲量は前年より約３倍程度増加したが（6,900トン），いまだ高い水準ではなく，資源状態は横ばいと考えられる（酒井，2012）。このような実態でも，現状で禁漁時期や海域の設定を実施することや漁船隻数などの制限などの漁獲努力量を規制することはできない。

現時点では我が国が行える対応策としては，大型サイズ主体に漁場探索を行い，イカ釣機の巻上げ回転数を制御して大型サイズの釣獲を向上させ，同時に釣獲される小型サイズに関しては，他腕による擬餌針捕捉を増大させ，脱落を低減させることである。これに加えて，釣獲された小型サイズのアカイカについては，雌雄と漁獲数量を正確に把握することが小型サイズ保護の管理方策として妥当と考えられる。今後は国際的な枠組みでの漁業管理が必要であり，具体的には小型サイズを保護する保護区や禁漁期・漁区についても検討するとともに，小型サイズの釣獲や脱落といった不合理な資源利用の状況が改善され，我が国のアカイカ釣り漁業の経営安定につながるとともに，持続的な普及の利用に向けて国際的な動きが始まることを期待する。

謝辞

本研究を取りまとめるに当たって，終始一貫して懇切丁寧にご指導賜った東京海洋大学名誉教授　有元貴文博士に対し，深甚の謝意を表します。

この研究の当初から深く関わり，技術的な指導と有益な示唆を賜るとともに，漁業の面白さを教えて頂きました東京海洋大学学術研究院 海洋生物資源学部門 准教授　稲田 博史博士に対し，ここに謹んで感謝の意を表します。

また，東京海洋大学理事（研究・国際担当）・副学長　東海 正博士，同教授　酒井 久治博士には，本論文の原稿をご高閲頂き，多くの有益な助言を賜りました。厚く御礼申し上げます。

また，本研究をまとめる機会を与えて頂きました同名誉教授　竹内 正一博士に深く感謝の意を表します。

操業実験に当たって調査船として協力頂いた，元第八白嶺丸の宮崎 勝男元漁労長（現　第一寶来丸），浜野 弘元漁労長，竹中 幸男元漁労長はじめ元乗組員の宮崎 卓也氏（現　第一寶来丸），宮崎 政宏氏（現第18白嶺丸漁労長）ほか乗組員各位に御協力頂きました。皆様に深謝致します。

国立研究開発法人水産研究・教育機構西海区水産研究所所長　渡部 俊広博士，同中央水産研究所海洋・生態系研究センター主任研究員　赤松 友成博士，同水産工学研究所漁業生産工学部主任研究員　三好 潤博士，同中央水産研究所水産生命情報研究センター主任研究員　柳本 卓博士，同中央水産研究所海洋・生態系研究センター研究員　重信 裕弥博士，同国際水産資源研究所外洋資源部長　一井 太郎博士，一般社団法人漁業情報サービスセンター技術専門員　酒井 光夫博士ならびに国立研究開発法人水産研究・教育機構水産大学校海洋生産管理学科准教授　若林 敏江博士にはアカイカの漁業に関わる多くの情報を提供頂くとともに，漁業・生物学的観点等からの数多くのアドバイスを賜りました。厚く御礼申し上げます。

統計学的解析手法について有益なる助言をいただきました，群馬大学社会情報学部教授　青木 繁伸博士に深謝致します。

株式会社MMT　村元 宏行氏，長崎大学海洋未来イノベーション機構環東シナ海環境資源研究センター教授　河邊 玲博士ならびに国立研究開発法人水産研究・教育機構日本海区水産研究所資源管理部任期付研究員　古川 誠志郎博士には加速度ロガーの解析方法について様々なアドバイスをいただきました。皆様に深く感謝致します。

国立研究開発法人水産研究・教育機構（水産総合研究センター）歴代理事の小松 正之博士（現　東京財団上席研究員），長尾 一彦氏（現　一般社団法人海外まき網漁業協会常務理事）ならびに武井 篤氏（現全国まき網漁業協会専務理事），国立研究開発法人水産研究・教育機構（水産総合研究センター）開発調査センター歴代所長の橋本 明彦氏（現　全国遠洋沖合漁業信用基金協会専務理事），熊谷 徹氏（現　内閣府総合海洋政策推進事務局参事官（水産・環境保全担当）），中津 達也氏（現　国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道海区水産研究所所長）ならびに井上 清和氏（現　水産庁増殖推進部研究指導課長），開発調査センター歴代副所長の高橋 正憲博士（現　特定非営利活動法人 水産業・漁村活性化推進機構事業部専任指導員），廣川 純夫氏ならびに堀川 博史博士，また開発調査センターの皆様には，研究の機会を与えていただくとともに，長期にわたり研究を応援して頂きました。とりわけ，開発調査センター底魚・頭足類開発調査グループリーダー山下 秀幸博士には様々な助言を賜るとともに，開発調査センター事業推進役小河 道生氏には研究と業務のサポートをして頂き，長期に亘りご鞭撻，ご指導をいただきました。

また，国立研究開発法人水産研究・教育機構水産工学研究所漁業生産工学部漁具・漁法グループ長　越智 洋介博士，同開発調査センター底魚・頭足類開発調査グループサブリーダー高橋 晃介氏には，調査の計画立案に御協力いただくとともに，様々な面から研究をサポートして頂きました。高橋 鏡子氏（同開発調査センター元職員）にはデータの入力や整理等において協力頂きました。石渡 未紀氏（同開発調査センター）には，文献の収集整理において協力頂きました。皆様に感謝致します。

さらに，Dr. Chris Norman（Japan Scientific Texts），権丈　英理子博士には英文の校閲，有益な助言を賜るとともに，ご指導いただきました。

国立研究開発法人水産研究・教育機構開発調査センター資源管理開発調査グループの廣瀬 太郎博士（現同瀬戸内水産海区水産研究所業務推進課長），鶴 専太郎博士，小田 憲太郎氏，岡谷 良喜氏（元職員），高田 順司氏（現　長崎県庁），富田 貴子氏には様々な面からサポート頂きました。皆様に深く感謝致します。

最後に，社会人になってからの博士課程入学を快く承諾し，どのような状況においても応援し，研究に費やす時間の確保に協力してくれた，素晴らしい妻に心から感謝します。

文献

Akamatsu T., Wang D., Wang K. and Naito Y., 2005：Biosonar behavior of free-ranging porpoises. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **272**, 797-801.

Akasaki T., Nikaido M., Tsuchiya K., Segawa S., Hasegawa M. and Okada N., 2006：Extensive mitochondrial gene arrangements in coleoid Cephalopoda and their phylogenetic implications. *Mol. Phy. Evol.*, **38**：648-658.

天下井清，2001：第6章　漁船と漁具の運動，「漁具物理学」（松田　皎編），成山堂書店，東京，pp. 102-119.

Bartol I. K., Mann R. and Patterson M.R., 2001a: Aerobic respiratory costs of swimming in the negatively buoyant brief squid Lolliguncula brevis. *J. Exp. Biol.*, **204**, 3639-3653.

Bartol I. K., Patterson M. R. and Mann R., 2001b: Swimming mechanics and behavior of the shallow-water brief squid Lolliguncula brevis. *J. Exp. Biol.*, **204**, 3655-3682.

Bower J. R. and Ichii T., 2005：The red flying squid (*Ommastrephes bartramii*)：A review of recent

research and the fishery in Japan. *Fish. Res.*, **76**: 39-55.

Bradbury H. E. and Aldrich A., 1969: Observations on locomotion of the short-finned squid, *Illex illecebrosus illecebrosus* (Lesueur, 1981) in captivity. *Can. J. Zool.*, **47**, 741-744.

Burke W. T, Freeberg M. and Miles E. L., 1994: United Nations Resolutions on driftnet fishing-An unsustainable precedent for high seas and coastal fisheries management. *Ocean Dev. Int. Law.*, **25**, 127-186.

Chen X. J., 1996: On the broken strength of *Todarodes pacificus* and *Ommastrephes bartramii* tentacles. *J. Shanghai. Fish. Univ.*, **5**, 115-118 (in Chinese).

Chen X. J., Liu B. L. and Chen Y., 2008: A review of the development of Chinese distant-water squid jigging fisheries. *Fish. Res.*, **89**, 211-221.

Clement M. D., Posada D, Crandall K. A., 2000: TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Evol.*, **9**, 1657-1659.

Dobson A. J., 1993: 統計モデル入門 (田中　豊, 森川敏彦, 栗原幸次訳), 共立出版, 東京, 176pp.

Dobson A. J. and Barnett A. G., 2008: Binary variables and logistic regression, third ed., in "An Introduction to Generalized Linear Models" (ed. by Dobson, A.J. and Barnett, A.G.), CRC Press, London, 123-147.

蝦名儀富, 高橋晃介, 越智洋介, 2010: 平成21年度海洋水産資源開発事業報告書 (システム対応型: 遠洋底びき網〈全層トロール〉: 南インド洋西部公海域), 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川, 24pp.

蝦名儀富, 柳本　卓, 星野浩一, 岡本　誠, 高橋晃介, 越智洋介, 2011: 平成22年度海洋水産資源開発事業報告書 (システム対応型:遠洋底びき網〈全層トロール〉: 南インド洋西部公海域), 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川, 59pp.

Excoffier L., Laval G. and Schneider S., 2005: Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.*, **1**, 47-50.

Excoffier L., Smouse P. E. and Quattro J. M., 1992: Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes; application to human mithochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.

Fleming P. A., Muller D. and Bateman P. W., 2007: Leave it all behind: a taxonomic perspective of autotomy in invertebrates. *Biol. Rev.*, **82**, 481-510.

Flores E. E. C., 1983: Laboratory observations on the visual attack of the squid, *Todarodes pacificus*. *Mem. Natl. Mus. Victoria*, **44**, 205-212.

Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. and Vrijenhoek R., 1994: DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotech.*, **3**, 294-299.

Foyle T. P. and O'Dor R. K., 1987: Predatory strategies of squid (*Illex illecebrousus*) attacking small and large fish. *Mar. Behav. Physiol.*, **13**, 155-168.

Guo B. H., Yada S., Toda M. and Inada H., 1997: Mechanical characteristics of improved jigs to prevent squid falling off in the capturing process. *Fish. Sci.*, **63**; 9-14.

平松一彦, 1992: 最尤法による水産資源の統計学的研究 -パラメータ推定とモデル選択-. 遠洋水研報, **29**, 57-114.

Ichii T., Mahapatra K., Okamura H. and Okada Y., 2006: Stock assessment of the autumn cohort of neon flying squid (*Ommastrephes bartramii*) in the North Pacific based on past large-scale high seas driftnet fishery data. *Fish. Res.*, **78**, 286-297.

Ichii T., Mahapatra K., Sakai M., Inagake D. and Okada Y., 2004: Differing body size between the autumn and the winter-spring cohorts of neon flying squid (*Ommastrephes bartramii*) related to the oceanographic regime in the North Pacific: a hypothesis. *Fish. Oceanogr.*, **13**, 295-309.

五十嵐脩蔵・見上隆克, 1978: いか釣漁業の機械化に関する研究Ⅱ 手巻きドラムと自動いか釣機による釣針の運動の比較. 北大水産彙報, **29**, 19-24.

池田良穂, 2006: 第5章　波の中での船の運動, 「船のしくみ」(池田良穂編), ナツメ社, 東京, pp. 112-166.

池田良穂, 2009: 第2部　船のしくみ, 「プロが教える船のすべてがわかる本」(池田良穂編), ナツメ

社，東京，74-76.
池田良穂・小松 清・姫野洋司・田中紀男，1977：横揺れ減衰力について－ビルジキールによる船体表面圧力効果－．関西造船協会誌，**165**，31-40.
稲田博史・廣川純夫・谷津明彦，1996：大型アカイカの昼釣り操業における水中灯の効果．日水誌，**62**，73-77.
Katugin O., 2002：Patterns of genetic variability and population structure in the North Pacific squids *Ommastrephes bartramii, Todarodes pacificus,* and *Berryteuthis magister*. *Bull. Mar. Sci.*, **71**, 383-420.
Kawabe R., Nashimoto K., Hiraishi T., Naito Y. and Sato K., 2003：A new device for monitoring the activity of freely swimming flatfish, Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fis. Sci.*, **69**, 3-10.
Kier W. M. and van Leeuwen J. L., 1997：A kinematic analysis of tentacle extension in the squid *Loligo pealei*. *J. Exp. Biol.*, **200**, 41-53.
Kimura M., 1980：A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, **16**, 111-120.
黄金崎栄一，2002：北太平洋でアカイカ操業を行う外国船の状況．「平成12年度イカ類資源研究会議報告」，日本海区水産研究所，新潟，pp. 88-91.
窪寺恒己，2004：小笠原近海でDSLを用いたアカイカ摂餌行動の観察．「平成15年度イカ類資源研究会議報告書」，日本海区水産研究所，新潟，pp. 72-77.
黒坂浩平，2005：平成17年度海洋水産資源利用合理化開発事業（いか釣）報告（速報）－北太平洋中・東部海域－，独立行政法人水産総合研究センター，神奈川，15pp.
黒坂浩平・越智洋介・小河道生，2009：平成20年度海洋水産資源開発事業報告書（資源対応型：いか釣Ⅰ〈北太平洋中・西部海域〉），独立行政法人水産総合研究センター，神奈川，57pp.
黒坂浩平・山下秀幸・越智洋介・小河道生・赤松友成・稲田博史・渡部俊広，2009：自動イカ釣機の釣具ライン巻き上げ速度がアカイカの擬餌針捕捉行動に及ぼす影響．日水誌，**75**，83-85.
Kurosaka K., Yamashita H., Ogawa M., Inada H. and Arimoto T, 2012：Tentacle-breakage mechanism for the neon flying squid *Ommastrephes bartramii* during the jigging capture process. *Fish. Res.*, **121-122**, 9-16.
松井正文・小池裕子，2003：生物進化と保全遺伝学，「保全遺伝学」（小池裕子，松井正文編），東京大学出版，東京，pp. 19-39.
マルコム・ダニング，1998：南半球におけるアカイカ漁業生物学および資源としての可能性に関する総説，「外洋性大型イカ類に関する国際シンポジウム講演集」（奥谷喬司 編），海洋水産資源開発センター，東京，pp. 63-74.
見上隆克・山下成冶・管木清治，2001：自動イカ釣機の巻上げドラム形状と釣針速度の制御．日水誌，**67**，481-488.
Murata M., 1990：Oceanic resources of squids. *Mar. Behav. Physiol.*, **18**, 19-71.
村田 守・石井 正・大迫正尚，1981：アカイカの触腕再生について．北水研報告，**46**，1-14.
Murata M. and Hayase S., 1993：Life history and biological information on flying squid (*Ommastrephes bartrami*) in the North Pacific Ocean. *Bull. Int. Nat. North Pacific Comm.*, **53**, 147-182.
村田 守・中村好和，1998：北太平洋におけるアカイカの季節的回遊および日収鉛直移動．「外洋性大型イカ類に関する国際シンポジウム講演集」（奥谷喬司 編），海洋水産資源開発センター，東京，pp. 11-28.
牟田 稔・山下秀幸・笹尾 信・越智洋介・小河道生，2005：平成15年度海洋水産資源利用合理化開発事業報告書（いか釣：北太平洋中・東部海域，南太平洋西部海域），独立行政法人水産総合研究センター，神奈川，244pp
長澤和也・森 純太・岡村 寛，1998：北太平洋のアカイカ群の生物学的指標としての寄生虫．「外洋性大型イカ類に関する国際シンポジウム講演集」（奥谷喬司 編），海洋水産資源開発センター，東京，pp. 47-62.
永田 靖・吉田道弘，1997：統計的多重比較法の基礎，サイエンティスト社，東京，187pp.
中谷 肇・高橋是太郎，2003：第4章 加工技術と漁獲物の有効利用，「スルメイカの世界 - 資源・漁業・利用」（有元貴文・稲田博史 共編），成山堂書店，東京，pp. 243-267.
Nei M. and Tajima F., 1981：DNA polymorphism detectable by restriction endonuclease. *Genetics*, **97**, 145-163.
Nei M., 1987：Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University Press, New York, 512pp.

Northridge S. P., 1991：Driftnet fisheries and their impacts on nontarget species：a worldwide review. *FAO. Fish. Tech. Pap.*, **320**, 29-45.

小河道生，2002：平成12年度海洋水産資源利用合理化開発事業（いか釣：あかいか）（北太平洋中部海域），海洋水産資源開発センター，東京，176pp.

小河道生，2003：平成13年度海洋水産資源利用合理化開発事業（いか釣：あかいか）（北太平洋中・東部海域），海洋水産資源開発センター，東京，148pp.

奥谷喬司，2005：アカイカ，「原色世界イカ図鑑」（奥谷喬司 編），全国加工いか加工業組合，東京，253pp.

Okutani T., 1990：Squids, cuttlefish and octopuses. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.*, **18**, 1-17.

Raymond M. and Rousset F., 1995：An exact test for population differentiation. *Evolution*, **49**, 1280-1283.

Roff D. A. and Bentzen P., 1989：The Statistical Analysis of Mitochondrial DNA Polymorphisms: X^2 and the Problem of Small Samples. *Mol. Biol. Evol.*, **6**, 539-545.

Roper C. F. E. and Voss G. L., 1983：Guidelines for taxonomic descriptions of cephalopod species. *Mem. Nat. Mus. Victoria*, **44**, 49-63.

Rozas J., Sanchez-DelBarrio J. C., Messeguer X. and Rozas R., 2003：DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, **19**, 2496-2497.

Saitou N. and Nei M., 1987：The neighbor-joining method：a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 406-425.

酒井光夫，2012：65アカイカ 北太平洋，「平成21年度国際資源の現況」（水産庁），水産庁・水産総合研究センター，東京，**65**, pp. 1-5.

Sato K., Mitani Y., Cameron M. F. and Siniff D. B., 2003：Naito Y. Factors affecting stroking patterns and body angle in diving Weddell seals under natural conditions. *J. Exp. Biol.*, **206**, 1461-1470.

Shotton R., 2006：Management of demersal fisheries resources of the southern Indian Ocean. *FAO Fish. Cir.*, **1020**, 1-90.

Sparre P., Ursin E. and Venema S. C., 1993：Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1：manual. *FAO Fish Tech. Paper*, **306**, 192-218.

Staaf D. J., Ruiz-Cooley R. I., Elliger C., Lebaric Z., Campos B., Markaida U. and Gilly W.F., 2010：Ommastrephid squids *Sthenoteuthis oualaniensis* and *Dosidicus gigas* in the eastern Pacific show convergent biogeographic breaks but contrasting population structures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **418**, 165-178.

水産庁，1996：平成7年度アカイカ好漁場探索調査報告書，水産庁，東京，192pp.

水産庁，1996：主要漁業の概要，水産庁，東京，pp. 83-91.

平 啓介，1997：世界の海流，「海洋のしくみ」（東京海洋大学研究所編），日本実業出版，東京，pp. 62-63.

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S., 2011：MEGA 5：Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.*, **28**, 2731-2739.

田中一郎，1987：いか流し網漁業，「1984～86年北太平洋におけるさけ・ます漁業に関連した海産哺乳類の調査研究（北太平洋漁業国際委員会提出文書）」（高木健治 編），遠洋水産研究所・水産庁，清水，pp. 129.

Thompson J. D., Higgins D. G. and Gibson T. J., 1994：CLUSTAL W：improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positionspecific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.*, **22**, 4673-4680.

Thompson J. T. and Kier W. M., 2002：Ontogeny of squid mantle function：changes in the mechanics of escape-jet locomotion in the oval squid, *Sepioteuthis lessoniana* Lesson, 1830. *Biol. Bull.*, **203**, 14-26.

東海 正，1997：MS-Excelのソルバーによる曳網の網目選択性Logistic式パラメータの最尤推定．水産海洋研究，**61**, 288-298.

東海 正，2009：曳網漁具の選択性曲線パラメータ最尤推定における適合性の検定について．水産工学，**46**, 69-80.

Tsuda Y., Kawabe R., Tanaka H., Mitsunaga Y., Hiraishi T., Yamamoto Y. and Nashimoto K., 2006：Monitoring the spawning behavior of chum salmon with an acceleration data logger.

Ecol. Freshwater Fish, **15**, 264-274.

上野康弘・酒井光夫, 2010：日本近海の有力な未利用資源－サンマ・アカイカ－,「水産学シリーズ163 新しい漁業のデザイン 沖合漁業の問題とその改善」(上野康弘・熊沢泰生・稲田博史 共編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 42-64.

渡部俊広・田中博之・中村好和・松下吉樹・馬場徳寿, 1995：第3章 高選択性漁獲技術の開発,「アカイカの高選択性漁獲技術の開発」, 農林水産技術会議事務局, 東京, **301**, 61-73.

Webber D. M. and O'Dor R. K., 1986：Monitoring the metabolic rate and activity of free-swimming squid with telemetered jet pressure. *J. Exp. Biol.*, **126**, 205-224.

Weir B. S. and Cockerham C. C., 1984：Estimateing F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.

Wileman D. A., Ferro R. S. T., Fonteyne R. and Millar R. B., 1996：Manual of methods of measuring the selectivity of towed fishing gears. *ICES Coop. Res. Rep.*, **215**, 1-126.

Yada S., Guo H., Toda M. and Nakamura Y., 1997：Mechanisms of squid falling off and preventing dropping out from jig of automatic jigging machine. *La Mer.*, **35**, 23-30.

Yatsu A., 2000：Age estimation of four oceanic squids, *Ommastrephes bartramii*, *Dosidicus gigas*, *Sthenoteuthis oualaniensis*, and *Illex argentinus* (Cephalopoda, Ommastrephidae) based on statolith microstructure. *Jpn. Agri. Res. Quart.*, **34**, 75-80.

山下秀幸, 2005：平成16年度海洋水産資源利用合理化開発事業（いか釣）報告（速報）－北太平洋中・東部海域－, 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川, 9 pp.

山下秀幸, 2006：平成16年度海洋水産資源利用合理化開発事業調査報告書（いか釣：北太平洋中・東部海域, 南太平洋西部海域), 独立行政法人水産総合研究センター, 神奈川, 284pp.

山下秀幸・黒坂浩平・越智洋介・小河道生, 2008：アカイカ釣りにおける釣り落としと船体運動との関係. 日水誌, **74**, 697-699.

谷津明彦・田中博之・森 純太, 1998：北太平洋におけるアカイカ*Ommastrephes bartramii*の資源構造,「外洋性大型イカ類に関する国際シンポジウム講演集」(奥谷喬司 編), 海洋水産資源開発センター, 東京, pp. 29-46.

谷津明彦・平松一彦・早瀬茂雄, 1994：日本のいか流し網漁業の概要と混獲について,「北太平洋漁業国際委員会研究報告」, 北太平洋漁業国際委員会, ヴァンクーヴァー, **53**, pp. 5-19.

水産研究・教育機構研究報告

Bulletin of Japan Fisheries Research and Education Agency

編集委員会

編集委員長　檜山義明

編 集 委 員　八吹圭三、金庭正樹、浜野かおる、島田裕之、藤井一則、野上欣也、加藤　修、
小倉未基、日向野純也、青野英明、大迫典久、山田陽巳、伏島一平

平成30年１月15日　発行

発 行 所　国立研究開発法人　水産研究・教育機構
〒220-6115　神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3　クィーンズタワーB 15階
National Research and Development Agency, Japan Fisheries Research and Education Agency
Queen's Tower B 15F, 2-3-3, Minato mirai, Nishi-ku, Yokohama, Kanagawa, 220-6115, Japan
http://www.fra.affrc.go.jp

発 行 者　宮原正典

印 刷 所　株式会社　美巧社

Copyright© (2017) by National Research and Development Agency,Japan Fisheries Research and Education Agency

BULLETIN OF
JAPAN FISHERIES RESEARCH AND EDUCATION AGENCY

No. 46
January 2018

Bull.Jap.Fish.Res.Edu.Agen.

CONTENTS

Doctoral Thesis

Study on the effect of nitroarenes on marine organisms 1

Study on improving jigging capture techniques for neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific Ocean 43